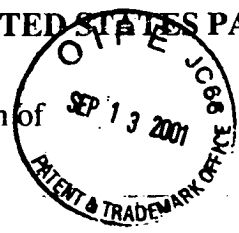


IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

RECEIVED  
SEP 17 2001  
TECH CENTER 1600/2900



In re Patent Application of

GIANNESSI et al.

Serial No. 09/677,328

Filed: October 2, 2000

Atty. Ref.: 2801-23

Group: 1625

Examiner: Aulakh, C.

For: COMPOUNDS HAVING REVERSIBLE INHIBITING  
ACTIVITY OF CARNITINE PALMITOYL-  
TRANSFERASE

\* \* \* \* \*

September 13, 2001

Assistant Commissioner for Patents  
Washington, DC 20231

**Match and Return**

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENTS

Sir:

It is respectfully requested that this application be given the benefit of the foreign filing date under the provisions of 35 U.S.C. §119 of the following, a certified copy of which is submitted herewith:

Application No.

MI98A001075

Country of Origin

Italy

Filed

15 May 1998

**Match and Return**

Respectfully submitted,

NIXON & VANDERHYE P.C.

By:

Arthur R. Crawford

Reg. No. 25,327

ARC:pfc  
1100 North Glebe Road, 8th Floor  
Arlington, VA 22201-4714  
Telephone: (703) 816-4000  
Facsimile: (703) 816-4100



# MINISTERO DELL'INDUSTRIA, DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

DIREZIONE GENERALE DELLA PRODUZIONE INDUSTRIALE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTE MARCHI



TECH CENTER 1600/2900

SEP 17 2001

RECEIVED

INV. IND.

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per .....

N. MI98 A 001075

*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali  
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati  
risultano dall'accluso processo verbale di deposito*

18 GIU. 1999

Roma, li .....

IL REGGENTE

IL DIRETTORE DELLA DIVISIONE

**D.ssa Paola DI CINTIO**

*Paola Di Cintio*

MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

MODULO A

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE. DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

Residenza ROMA

codice 00885531004

2) Denominazione

Residenza

codice

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome Dr. Diego Pallini ed altri

cod. fiscale

denominazione studio di appartenenza

NOTARBARTOLO & GERVASI S.p.A.

via C.so di Porta Vittoria

n.

9

città

MILANO

cap

201

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via

n.

città

cap

(prov)

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci)

gruppo/sottogruppo

Inibitori reversibili della carnitina palmitoil trasferasi

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI NO

SE ISTANZA: DATA

N° PROTOCOLLO

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) GIANNESSESI Fabio

3) MINETTI Patrizia

2) MARZI Mauro

4) TINTI Maria Ornella

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato  
S/R

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo

1) NESSUNA

2)

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

NESSUNA

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) 1 PROV n. pag. 63  
Doc. 2) 1 PROV n. tav. 08  
Doc. 3) 1 RIS  
Doc. 4) 0 RIS  
Doc. 5) 0 RIS  
Doc. 6) 0 RIS  
Doc. 7) 0

riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) .....  
disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare .....  
lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale .....  
designazione inventore .....  
documenti di priorità con traduzione in italiano .....  
autorizzazione o atto di cessione .....  
nominativo completo del richiedente

9) attestati di versamento, totale lire

NOVECENTOQUINDICIMILA.=

COMPILATO IL 15 05 1998

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

Diego Pallini

CONTINUA S/NO SI

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA S/NO SI

UFFICIO PROVINCIALE IND. COMM. ART. DI

MILANO

codice 15

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI98A 001075

Reg. A

L'anno millenovecento

NOVANTOTTO

il giorno

QUINDICI

del mese di

MAGGIO

il (i) richiedente (i) sopraindicato (i) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredate di n. 01 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprariportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE

IL DEPOSITANTE

L'UFFICIALE ROGANTE

timbro  
dell'ufficio

CORTONESI MAURIZIO

FOGLIO AGGIUNTIVO n.

di totali

DOMANDA N.

REG. A

M198A001075

## A. RICHIEDENTE (I)

N.G.

<input type="checkbox"/>	Denominazione		
<input type="checkbox"/>	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
<input type="checkbox"/>	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
<input type="checkbox"/>	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
<input type="checkbox"/>	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
<input type="checkbox"/>	Residenza		codice
<input type="checkbox"/>	Denominazione		
<input type="checkbox"/>	Residenza		codice

## E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

05	DE ANGELIS Francesco		
06	CHIODI Piero		
07	ARDUINI Arduino		

## F. PRIORITÀ

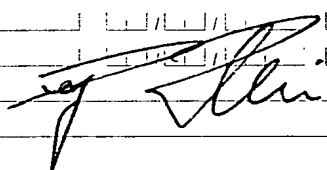
nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R

## SCIOGLIMENTO RISERVE

Data

N° Protocollo


FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I) Diego Pallini



## RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA

M.98A001075

REG. A

DATA DI DEPOSITO

15.5.98

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

/ /

## A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

Residenza

ROMA

## D. TITOLO

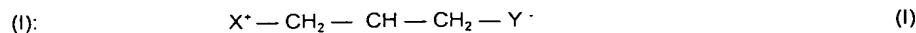
Inibitori reversibili della carnitina palmitoil trasferasi

Classe proposta (sez./cl./scl/)

(gruppo/sottogruppo)

## L. RIASSUNTO

La presente invenzione riguarda nuovi inibitori della carnitina palmitoil trasferasi aventi la seguente formula



dove  $X^*$  è scelto tra  $N^*$  ( $R_1, R_2, R_3$ ) e  $P^*$  ( $R_1, R_2, R_3$ ) in cui  $R_1, R_2, R_3$  sono scelti tra H, ed alchili uguali o diversi, lineari o ramificati, aventi da 1 a 9 atomi di carbonio,

$-CH=NH(NH_2)$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$ ; oppure uno o più tra  $R_1, R_2$  e  $R_3$  formano con l'azoto un sistema eterociclico saturo o insaturo, monociclico o bidentico; con la condizione che almeno uno tra  $R_1, R_2, R_3$  è diverso da H;

Z è scelto tra

$-OR_4$ ,  $-OCOOR_4$ ,  $-OCONHR_4$ ,  $-OCSNHR_4$ ,  $-OCSOR_4$ ,  $-NHR_4$ ,

$-NHCOOR_4$ ,  $-NHCSOR_4$ ,  $-NHCONHR_4$ ,  $-NHCSNHR_4$ ,  $-NHSOR_4$ ,

$-NHSO_2R_4$ ,  $-NHSO_2NHR_4$ ,  $-SR_4$ , dove  $R_4$  è un alchile avente da 2 a 20 atomi di carbonio;  $Y^*$  è scelto tra -

$COO^-$ ,  $-PO_3H^-$ ,  $-OPO_3H^-$  tetrazolato-5-ile.

## M. DISEGNO

Domanda di brevetto per invenzione industriale dal titolo:

INIBITORI REVERSIBILI DELLA CARNITINA PALMITOIL TRASFERASI

a nome di SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

con sede in ROMA

Inventori designati GIANNESSI Fabio, MARZI Mauro, MINETTI Patrizia,

TINTI Maria Ornella, DE ANGELIS Francesco, CHIODI Piero, ARDUINI

Arduino

depositata il

con n.

15 MAG. 1998

\*\*\*\*\*

MI 58 A 1075

#### CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione descrive una nuova classe di composti ad azione inibitrice della carnitina palmitoil trasferasi; l'invenzione riguarda inoltre composizioni farmaceutiche che contengono almeno un nuovo composto secondo l'invenzione, ed il loro impiego terapeutico nel trattamento di stati iperglicemici quali il diabete e le patologie ad esso associate, e dell'insufficienza cardiaca congestizia.

#### TECNICA ANTERIORE

La terapia ipoglicemica nota si basa sull'utilizzo di farmaci a diverso meccanismo d'azione (Arch. Intern. Med. 1997, 157, 1802- 1817).

La terapia più diffusa è quella a base di insulina o suoi analoghi, che sfrutta l'azione ipoglicemica diretta di questo ormone.

Altri composti agiscono indirettamente stimolando il rilascio di insulina (solfoniluree), Un altro target dei farmaci ipoglicemici è la riduzione dell'assorbimento intestinale di glucosio tramite inibizione delle

glucosidasi intestinali, o la riduzione dell'insulino-resistenza.

L'iperglicemia viene anche trattata con inibitori della gluconeogenesi quali le biguanidi.

Alcuni lavori hanno evidenziato la relazione tra la gluconeogenesi e l'enzima carnitina palmitoil trasferasi.

La carnitina palmitoil trasferasi catalizza la formazione nel citoplasma di palmitoilcarnitina (acido grasso attivato) a partire da carnitina e palmitoilcoenzima A. La palmitoilcarnitina, diversamente dall'acido palmitico in quanto tale, attraversa facilmente la membrana mitocondriale. All'interno della matrice mitocondriale, si ricostituisce il palmitoilcoenzima A, con rilascio di carnitina. Il palmitoil-Coenzima A è ossidato ad acetil-Coenzima A, il quale attiva la piruvico carbossilasi, enzima chiave della via gluconeogenetica.

Altri lavori riferiscono che i pazienti diabetici hanno elevati tassi ematici di acidi grassi che vengono ossidati a livello epatico producendo acetilcoenzima A, ATP e NADH. La elevata disponibilità di queste molecole causa una sovraregolazione della gluconeogenesi, con conseguente aumento del tasso di glucosio ematico. In queste situazioni, l'inibizione delle CPT permetterebbe di limitare l'ossidazione degli acidi grassi e quindi, dipendentemente, la gluconeogenesi e l'iperglicemia. Inibitori della CPT sono stati descritti in J.Med.Chem., 1995, 38(18), p.3448-50, e nella relativa domanda di brevetto europeo EP-A-574355 come potenziali derivati ad azione ipoglicemica.

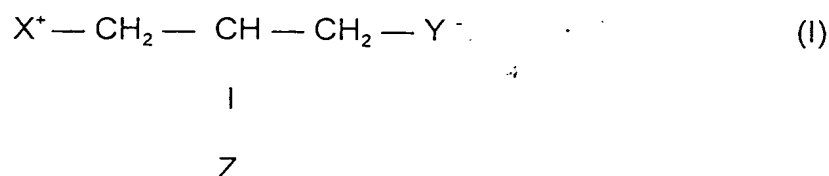
Nonostante il meccanismo d'azione sopra ipotizzato, a tutt'oggi non

esistono farmaci inibitori della CPT in grado di contrastare efficacemente l'iperglicemia. Per alcuni prodotti quali l'acido tetradecilglicidico, o l'etomoxir, sono state evidenziati effetti collaterali di ipertrofia miocardica (Life Sci. 1989, 44, 1897-1906).

Nessuna delle terapie attualmente utilizzate clinicamente è pienamente soddisfacente, in particolare a causa dell'insorgenza di effetti indesiderati quali severa ipoglicemia, fenomeni allergici, edema, diarrea, disturbi intestinali, tossicità renale, ecc. Rimane dunque viva la necessità di ottenere efficaci terapie alternative per il trattamento dell'iperglicemia..

### SOMMARIO

La presente invenzione riguarda nuovi inibitori della carnitina palmitoil trasferasi aventi la seguente formula (I):



dove  $X^+$  è scelto tra  $N^+(R_1, R_2, R_3)$  e  $P^+(R_1, R_2, R_3)$ , in cui  $R_1, R_2, R_3$  sono scelti tra H ed alchili uguali o diversi, lineari o ramificati, aventi da 1 a 9 atomi di carbonio,

$-CH=NH(NH_2)$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$ ; oppure uno o più tra  $R_1, R_2$  e  $R_3$  formano con l'azoto un sistema eterociclico saturo o insaturo, monociclico o biciclico; con la condizione che almeno uno tra  $R_1, R_2, R_3$  è diverso da H;

Z è scelto tra :

$-OR_4$ ,

$-OCOOR_4$ ,





1447PTIT

Notarbartolo & Gervasi S.p.A.

-OCONHR<sub>4</sub>,

-OCSNHR<sub>4</sub>,

-OCSOR<sub>4</sub>,

-NHR<sub>4</sub>,

-NHCOOR<sub>4</sub>,

-NHCSOR<sub>4</sub>,

-NHCONHR<sub>4</sub>,

-NHCSNHR<sub>4</sub>,

-NHSOR<sub>4</sub>,

-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>,

-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>NHR<sub>4</sub>,

-SR<sub>4</sub>,

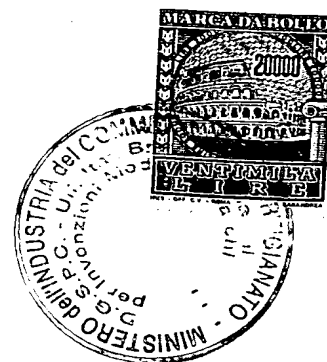
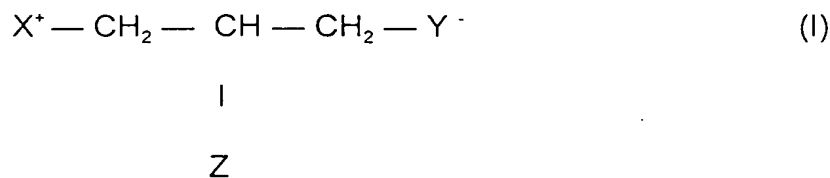
dove R<sub>4</sub> è un alchile avente da 2 a 20 atomi di carbonio;

Y<sup>-</sup> è scelto tra -COO<sup>-</sup>, -PO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, -OPO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, tetrazolato-5-il.

La domanda riguarda inoltre composizioni farmaceutiche contenenti almeno un inibitore di formula (I) come principio attivo, ed l'uso di detti inibitori nel trattamento dell'iperglicemia, del diabete, dei disturbi ad esso associati, e dell'insufficienza cardiaca congestizia.

#### DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda composti aventi la seguente formula (I):



dove  $X^+$  è scelto tra  $N^+(R_1, R_2, R_3)$  e  $P^+(R_1, R_2, R_3)$ , in cui  $R_1, R_2, R_3$  sono scelti tra H ed alchili uguali o diversi, lineari o ramificati, aventi da 1 a 9 atomi di carbonio,  $-CH=NH(NH_2)$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$ ; oppure uno o più tra  $R_1, R_2$  e  $R_3$  formano con l'azoto un sistema eterociclico saturo o insaturo, monociclico o biciclico; con la condizione che almeno uno tra  $R_1, R_2, R_3$  è diverso da H;

Z è scelto tra :

- OR<sub>4</sub>,
- OCOOR<sub>4</sub>,
- OCONHR<sub>4</sub>,
- OCSNHR<sub>4</sub>,
- OCSOR<sub>4</sub>,
- NHR<sub>4</sub>,
- NHCOOR<sub>4</sub>,
- NHCSOR<sub>4</sub>,
- NHCONHR<sub>4</sub>,
- NHCSNHR<sub>4</sub>,
- NHSOR<sub>4</sub>,
- NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>,
- NHSO<sub>2</sub>NHR<sub>4</sub>,
- SR<sub>4</sub>,

dove R<sub>4</sub> è un alchile avente da 2 a 20 atomi di carbonio; Y<sup>-</sup> è scelto tra - COO<sup>-</sup>, -PO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, - OPO<sub>3</sub>H<sup>-</sup> tetrazolato-5-il.

Un gruppo  $N^+$  ( $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ) preferito è trimetilammonio. Se presente, il sistema eterociclico formato da  $R_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  è preferibilmente scelto tra morfolinio, piridinio, pirrolidinio, chinolinio, chinuclidinio.

In un altro caso preferito,  $R_1$  ed  $R_2$  sono rappresentati da H, ed  $R_3$  è scelto tra  $-CH=NH(NH_2)$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$ .

Il gruppo  $R_4$  è preferibilmente un alchile lineare o ramificato, saturo o insaturo, contenente da 7 a 20 atomi di carbonio. Si è infatti osservato che la lunghezza della catena alchilica  $R_4$  aumenta in modo rilevante la selettività dei composti nei confronti della CPT. I gruppi  $R_4$  preferiti sono dunque scelti tra eptile, ottile, nonile, decile, undecile, dodecile, tridecile, tetradecile, pentadecile, esadecile, eptadecile, octadecile, nonadecile, eicosile.

Esempi preferiti di Z sono i gruppi ureido ( $-NHCONHR_4$ ), e carbammato ( $-OCONHR_4$ ).

In particolare si preferiscono i composti di formula (I) in cui  $X^+$ ,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  hanno i significati sopra descritti, Z è ureido ( $-NHCONHR_4$ ) o carbammato ( $-OCONHR_4$ ), ed  $R_4$  è un alchile lineare o ramificato, saturo o insaturo, avente da 7 a 20, preferibilmente da 9 a 18 atomi di carbonio. I prodotti di formula (I) posseggono un centro di asimmetria sull'atomo di carbonio legato al gruppo Z. Ai fini della presente invenzione, ciascuno dei prodotti di formula (I) può esistere sia come miscela racemica R,S, che nelle forme isomeriche separate R / S.

I prodotti di formula (I) sono derivati ammonici o fosfonici quaternari ( $X^+$ ) sempre contenenti un gruppo anionico ( $Y^-$ ). Dipendentemente dal pH,

ciascuno dei prodotti di formula (I) può esistere indifferentemente come anfoione (sale interno), o come prodotto in cui  $Y^-$  è presente in forma  $YH$ .

In tal caso  $X^+$  è salificato con l'anione di un acido farmacologicamente accettabile. La formula (I) copre tutte queste diverse possibilità di salificazione.

Prodotti preferiti di formula (I) sono i seguenti:

- 1) R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato
- 2) R,S-4-chinuclidinio-3-(tetradecilossicarbonil)-ossi-butirrato
- 3) R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato
- 4) Acido R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbonil)-ossi-butirrico cloruro
- 5) R,S-4-trimetilfosfonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato
- 6) R,S-4-trimetilammonio-3-(ottilossicarbonil)-ammino-butirrato
- 7) R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbonil)-ammino-butirrato
- 8) R,S-4-trimetilammonio-3-ottilossi-butirrato
- 9) R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilossi-butirrato
- 10) R,S-1-guanidinio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano
- 11) R,S-1-trimetilammonio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano
- 12) R,S-3-chinuclidinio-2-(tetradecilossicarbonil)-ossi-1-propanfosfonato monobasico
- 13) R,S-3-trimetilammonio-2-(nonilamminocarbonil)-ossi-1-propanfosfonato monobasico
- 14) Acido-R,S-3-piridinio-2-(nonilamminocarbonil)-ossi-1-propanfosfonico cloruro

- 15) R-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato
- 16) R-4-trimetilammonio-3-(undecilcarbamoil)-ammino-butirrato
- 17) R-4-trimetilammonio-3-(eptilcarbamoil)-ammino-butirrato
- 18) R,S-4-trimetilammonio-3-(noniltiocarbamoil)-ammino-butirrato
- 19) R-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato
- 20) S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato
- 21) S-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato
- 22) R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilammino-butirrato
- 23) R,S-4-trimetilammonio-3-ottilammino-butirrato



La struttura dei prodotti 1-23 è riportata nelle figure 5a-5c

I prodotti di formula (I) possono essere preparati utilizzando reazioni note nello stato della tecnica.

In generale i derivati dove Z= carbonato, carbammato  $-OCONHR_4$ , tiocarbammato  $-OCSNHR_4$  tiocarbonato, si ottengono per reazione di acidi idrossibutirrici, di acidi idrossipropanfosfonici, di idrossipropilfosfati, di idrossi propantetrazoli di struttura desiderata, eventualmente protetti sui gruppi acidi, rispettivamente con alchilcloroformiati, con alchil isocianati, con alchiltioisocianati, con alchiltiocloroformiati in cui l'alchile è  $R_4$

I derivati dove Z= carbammato  $-NHCOOR_4$ , ureido, tiocarbammato  $-NHCSOR_4$ , tioureido, solfinammide  $-NHSOR_4$ , solfonammide  $-NHSO_2R_4$  e solfammide  $-NHSO_2NHR_4$  si ottengono per reazione di acidi aminobutirrici, di acidi aminopropanfosfonici, di aminopropilfosfati, di aminopropantetrazoli di struttura desiderata, eventualmente protetti

sui gruppi acidi, rispettivamente con alchilcloroformiati, con alchilisocianati, con alchiltiocloroformiati, con alchiltioisocianati, con alchilsolfonilcloruri, con alchilsolfonilcloruri, con alchil solfamoidcloruri in cui l'alchile è  $R_4$ . I derivati dove  $Z = -OR_4$  e  $-SR_4$  si ottengono per reazione di composti carbonilici di struttura desiderata rispettivamente con alcanoli e alcanetoli in cui l'alchile è  $R_4$  e successiva riduzione.

I derivati dove  $Z = -NHR_4$  si ottengono per reazione di acidi aminobutirrici, di acidi aminopropanfosfonici, di aminopropilfosfati, di aminopropantetrazoli di struttura desiderata, eventualmente protetti sui gruppi acidi, con alcanecarbaldeidi in cui l'alchile è un omologo di  $R_4$  inferiore di un termine e successiva riduzione.

La sintesi dei composti 1-23 viene riportata dettagliatamente nella parte sperimentale.

I composti di formula (I) hanno attività inibitrice reversibile delle carnitina palmitoil trasferasi. Tale azione permette di utilizzarli nel trattamento e nella prevenzione dell'iperglicemia, del diabete e dei disordini ad esso connessi come ad esempio la retinopatia diabetica, la neuropatia diabetica ed i disturbi cardiovascolari. I composti di formula (I) trovano impiego anche nella prevenzione e trattamento dei disordini cardiaci quali l'insufficienza cardiaca congestizia.

L'azione inibitrice dei composti di formula (I) si esplica prevalentemente a livello dell'isoforma I della carnitina palmitoil trasferasi (CPT-I).

Ulteriore oggetto della presente invenzione sono composizioni farmaceutiche contenenti uno o più tra i prodotti di formula (I)

precedentemente descritti, in associazione con eccipienti e/o diluenti farmacologicamente accettabili. Le composizioni in oggetto possono contenere, in associazione con i composti di formula (I), principi attivi noti.

Le composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione possono essere adatte per la somministrazione orale, parenterale, rettale, transdermica. Le forme orali comprendono capsule, compresse, granulati, polveri, sciroppi, elisir. Le forme parenterali comprendono soluzioni o emulsioni.

Il dosaggio dei prodotti della presente invenzione varia in relazione al tipo di prodotto impiegato, alla via di somministrazione ed al grado di sviluppo della patologia da trattare. In generale si può ottenere un efficace effetto terapeutico a dosaggi compresi tra 1-100 mg/Kg

L'invenzione comprende ulteriormente l'impiego dei prodotti di formula (I) per la preparazione di farmaci ad azione ipoglicemizzante. Ulteriore realizzazione dell'invenzione è un processo per la preparazione di composizioni farmaceutiche caratterizzato dal mescolare uno o più composti di formula (I) con opportuni eccipienti e/o diluenti farmaceuticamente accettabili.

L'invenzione in oggetto viene ora illustrata mediante i seguenti esempi non limitativi.

#### PREPARAZIONE DEI COMPOSTI DI FORMULA (I)

##### Esempio 1

Preparazione di R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-

**butirrato ST 1251**Nonilisocianato

A sodio azide (9.53 g, 146.6 mmoli) in H<sub>2</sub>O (30 mL) raffreddata con bagno a ghiaccio venne aggiunta goccia a goccia una soluzione di decanoil cloruro (20 g, 104.8 mmoli) in acetone (30 mL) mantenendo la soluzione a temperature comprese tra 10 e 15°C. Dopo un'ora la soluzione venne trasferita in imbuto separatore e la fase inferiore (acquosa) venne allontanata. La fase superiore venne travasata in un pallone contenente 100 mL di toluene preventivamente scaldato a 65°C. Dopo 1.5 ore la soluzione venne evaporata dando 13.47 g di prodotto grezzo che dopo distillazione sotto vuoto fornì 8.3 g di prodotto puro come liquido incolore (47%); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.3 (t, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.45-1.2 (m, 12H), 0.9 (brt, 3H).

R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato

Ad amminocarnitina sale interno (7.3 g, 4.5 mmoli) in DMSO anidro (350 mL) venne aggiunto nonilisocianato (15.29 g, 9.0 mmoli) e la soluzione venne lasciata per 60 ore a 40 °C. La miscela risultante venne travasata in una beuta da 3 L contenente Et<sub>2</sub>O (2.5 L) e il solvente venne separato per decantazione dal precipitato formatosi che venne poi ripreso con poco CHCl<sub>3</sub>, trasferito in un pallone e riprecipitato con Et<sub>2</sub>O. Il prodotto grezzo così ottenuto venne lavato varie volte con Et<sub>2</sub>O e purificato mediante cromatografia su gel di silice usando come eluente un gradiente da CHCl<sub>3</sub>:MeOH 9:1 a CHCl<sub>3</sub>:MeOH 3:7 fino a eluizione delle impurezze a R<sub>f</sub> superiore, poi eluendo il prodotto con solo MeOH. Si



ottennero 9.7 g di prodotto ( 68%); Pf = 145-147 °C;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) d 4.4 (m, 1H), 3.45 (dd, 1H), 3.30 (d, 1H), 3.05 (s, 9H), 2.9 (t, 2H), 2.3 (d, 2H), 1.3 (m, 2H), 1.15 (brs, 12H), 0.8 (brt, 3H); massa FAB = 330  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ ; A.E. conforme per  $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_3$ : KF = 2.5%  $\text{H}_2\text{O}$ ; TLC: gel di silice,  $\text{CHCl}_3$ :iPrOH:MeOH: $\text{H}_2\text{O}$ : $\text{CH}_3\text{COOH}$  42:7:28:10.5:10.5,  $R_f$  = 0.55; HPLC: colonna SGE-SCX (5mm, 250 x 4 mm), T = 30 °C, fase mobile =  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2 M: $\text{CH}_3\text{CN}$  85:15, pH tal quale, flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 12.63 min.

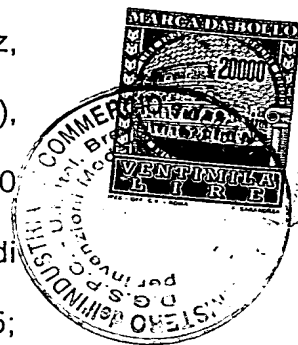
## Esempio 2

### Preparazione di R,S-4-chinuclidinio-3-(tetradecilossicarbonil)-ossi-butirrato ST 1265

#### R,S-4-Chinuclidinio-3-idrossi-butirrato di ter-butile ioduro

A R,S-4-iodo-3-idrossi-butirrato di ter-butile (6.18 g, 21.60 mmoli) in  $\text{CH}_3\text{CN}$  (60 mL) venne aggiunta chinuclidina (2.40 g, 21.60 mmoli) e la soluzione venne scaldata a 60 °C per 20 ore sotto agitazione. Dopo evaporazione del solvente il residuo venne sciolto in  $\text{CH}_3\text{CN}$  e precipitato con  $\text{Et}_2\text{O}$  varie volte per dare 7.2 g di prodotto contaminato con circa il 13 % in peso (da NMR) di chinuclidina ioduro. Dopo cristallizzazione ripetuta da  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$  si ottennero 4.3 g di prodotto puro (resa 50 %). Pf = 124-127 °C;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) d 4.50 (m, 1H), 3.40 (m, 6H), 3.12 (m, 2H), 2.42 (m, 2H), 2.08 (m, 1H), 1.88 (m, 6H), 1.34 (m, 9H), Massa FAB = 270  $[\text{M}^+]$ ; A.E. conforme per  $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{INO}_3$ : KF = 0.5%  $\text{H}_2\text{O}$ .

La preparazione del 4-iodo-3-idrossi-butirrato di ter-butile è stata



effettuata come descritto in J. Pharm. Science 64/7, 1262-1264, 1975.

Cloroformiato di tetradecile

Ad alcool tetradecilico (4 g, 18.66 mmoli) vennero aggiunti 29 mL di una soluzione di fosgene al 20 % (55.98 mmoli) in toluene e la reazione venne lasciata 20 ore sotto agitazione a T.A.. Dopo evaporazione del solvente il residuo venne ripreso con esano ed evaporato (varie volte) per dare 5.1 g di prodotto come liquido incolore (98%).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.30 (t, 2H), 1.72 (m, 2H), 1.30 (m, 22H), 0.85 (brt, 3H).

R,S-4-Chinuclidinio-3-(tetradecilossicarbonil)-ossi-butirrato di ter-butile cloruro

A R,S-4-chinuclidinio-3-idrossi-butirrato di ter-butile ioduro (2 g, 5.03 mmoli) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (20 mL) vennero aggiunti dimetilamminopiridina (922 mg, 7.55 mmoli) e cloroformiato di tetradecile (2.09 g, 7.55 mmoli). La soluzione venne lasciata sotto agitazione a T.A. per 20 ore, poi diluita con  $\text{CHCl}_3$ , lavata con HCl 1N, NaCl s.s., e seccata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Il residuo ottenuto per evaporazione del solvente venne ripreso con  $\text{Et}_2\text{O}$  e il residuo indisciolto venne allontanato per filtrazione. Per evaporazione del filtrato si ottenne un prodotto grezzo che dopo flash cromatografia su gel di silice (eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 9:1) ed eluizione con MeOH su resina Amberlyst A-21 (attivata in forma HCl) fornì 1.6 g di prodotto come cloruro (58%).  $\text{Pf} = 59-60^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.50 (m, 1H), 4.55 (d, 1H), 4.15 (m, 2H), 3.80 (m, 7H), 2.90 (dd, 1H), 2.75 (dd, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.05 (m, 6H), 1.65 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.25 (m, 22H), 0.85 (brt, 3H); Massa FAB = 510  $[\text{M}^+]$ ; A.E. conforme per

$C_{30}H_{56}ClNO_5$ : KF = 1.5 %  $H_2O$ .

R,S-4-chinuclidinio-3-(tetradecilossicarbonil)-ossi-butirrato

A R,S-4-chinuclidinio-3-tetradecilossicarbonilossi-butirrato di ter-butile cloruro (1.05 g, 1.92 mmoli) venne aggiunto acido trifluoroacetico (6 mL) e la soluzione venne lasciata 1 ora sotto agitazione a T.A.. Dopo evaporazione sotto vuoto dell'acido trifluoroacetico il residuo venne ripreso con cicloesano e portato a secco di nuovo varie volte, quindi trasferito su resina Amberlite IRA 402 (in forma  $Cl^-$ ) ed eluito con  $H_2O$ . Il prodotto grezzo ottenuto per liofilizzazione venne purificato per flash cromatografia su gel di silice ( $CHCl_3$ : MeOH 8:2) fornendo 480 mg di prodotto come sale interno (55 %). Pf = 132-134 °C;  $^1H$  NMR (300 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  5.35 (m, 1H), 4.05 (m, 2H), 3.40 (m, 8H), 2.55 (dd, 1H), 2.35 (dd, 1H), 2.08 (m, 1H), 1.90 (m, 6H), 1.55 (m, 2H), 1.20 (m, 22H), 0.75 (brt, 3H); Massa FAB = 454 ( $MH^+$ ); A.E. conforme per  $C_{26}H_{47}NO_5$ : KF = 1.5 %  $H_2O$ ; TLC: gel di silice,  $CHCl_3$ :MeOH 7:3,  $R_f$  = 0.34; HPLC: colonna SGE-SCX (5 mm, 250 x 4 mm), T = 30 °C, fase mobile =  $NH_4H_2PO_4$  0.05 M:  $CH_3CN$  60:40, pH = 4.0 con  $H_3PO_4$ , flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 6.72 min.

**Esempio 3**

**Preparazione di R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato ST 1298**

Benzilestere dell'acido R,S-4 trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrico perclorato

A R,S-carnitina benzilestere perclorato (7.69 g, 21.86 mmoli) in toluene

(100 mL), venne aggiunto nonilisocianato (7.39 g, 43.36 mmoli) e la miscela venne riscaldata a riflusso sotto agitazione per 5 giorni. Venne aggiunto altro nonilisocianato (1.84 g, 10.86 mmol) e la reazione venne lasciata a riflusso per altri 5 giorni. Il solvente venne evaporato sotto vuoto, il residuo venne lavato con Et<sub>2</sub>O e successivamente ripreso con CHCl<sub>3</sub>, lavato con H<sub>2</sub>O e seccato su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. L'olio ottenuto per evaporazione della fase organica venne purificato per flash cromatografia usando come eluente un gradiente da CHCl<sub>3</sub> a CHCl<sub>3</sub>-MeOH 95-5. Si ottennero 4.4 g di prodotto come olio denso (resa = 38,6 %); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ 7.3 (s, 5H), 5.4 (m, 2H), 5.05 (m, 2H), 3.8 (dd, 1H), 3.55 (d, 1H), 3.15 (s, 9H), 3.05 (m, 2H), 2.75 (m, 2H), 1.4 (m, 2H), 1.2 (brs, 12H), 0.8 (brt, 3H); TLC: gel di silice, CHCl<sub>3</sub>:MeOH 9:1, R<sub>f</sub> = 0.29.

R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato

Al benzilestere dell'acido R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrico perclorato (4.4 g; 8.44 mmoli) in MeOH (115 mL) venne aggiunto Pd/C al 10% (0.44 g) e la miscela venne idrogenata a 47 PSI per 4 ore. Dopo filtrazione su celite la soluzione venne concentrata sotto vuoto e percolata su resina Amberlyst A-21 eluendo con MeOH. Per evaporazione del solvente si ottennero 2.47 g di prodotto (resa = 88.7%); P<sub>f</sub> = 151-153 °C; <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 300 MHz) δ 5.4 (m, 1H), 3.75 (dd, 1H), 3.5 (d, 1H), 3.15 (s, 9H), 3.05 (t, 2H), 2.55 (dd, 1H), 2.40 (dd, 1H) 1.45 (m, 2H), 1.20 (brs, 12H), 0.8 (brt, 3H); Massa FAB = 331 [(M+H)<sup>+</sup>]; A.E. conforme per C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: KF= 1.5 % H<sub>2</sub>O; TLC: gel di

silice, MeOH,  $R_f = 0.22$ ; HPLC: colonna SPHERISORB-SCX (5mm, 250 x 4 mm),  $T = 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ , fase mobile =  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM:  $\text{CH}_3\text{CN}$  40:60, pH = 4.0 con  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 5.33 min.

#### Esempio 4

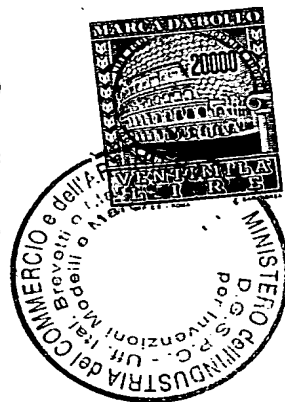
**Preparazione dell'acido R,S-4-trimetilammonio-3- (nonilossi- carbonil)-ossi-butirrico cloruro ST 1297**

Benzilestere dell'acido R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossi-

carbonil)-ossi-butirrico cloruro

A R,S-carnitina benzilestere perclorato (7.33 g, 20.8 mmoli) in DMF anidra (50 mL) a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  vennero aggiunti nonilcloroformiato (6.45 g, 31.2 mmoli) e dimetilamminopiridina (3.8 g, 31.2 mmoli). La temperatura venne lasciata salire a T.A. e la miscela venne lasciata sotto agitazione per 3 giorni. Venne aggiunto  $\text{CHCl}_3$  e la soluzione venne lavata con  $\text{HClO}_4$  1N. La fase organica venne seccata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporata a secchezza per dare 6.02 g di prodotto grezzo che venne purificato per flash cromatografia usando con eluente  $\text{CHCl}_3$ :MeOH 85:15. Si ottennero 3.52 g di olio denso che vennero disciolti in MeOH e percolati su resina Amberlyst A-21 (attivata con HCl) eluendo con MeOH. Per evaporazione del solvente sotto vuoto si ottennero 3.1 g di prodotto oleoso (resa = 32.4 %);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  7.3 (s, 5H), 5.45 (m, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.4 (d, 1H), 4.1 (t, 2H), 3.8 (dd, 1H), 3.4 (s, 9H), 2.9 (m, 2H), 1.55 (m, 2H), 1.2 (brs, 12H), 0.8 (brt, 3H).

La preparazione del nonilcloroformiato è stata effettuata come descritto



nell'esempio 2 per il cloroformiato di tetradecile.

Acido R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbonil)-ossi-butirrico cloruro

Al benzilestere dell'acido R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbonil)-ossi-butirrico cloruro (1.1 g, 2.4 mmoli) in MeOH (10 mL) venne aggiunto Pd/C al 10% (110 mg) e la miscela venne idrogenata a 47 PSI per 2 ore. Dopo filtrazione su celite il solvente venne evaporato a secchezza sotto vuoto fornendo 883 mg di prodotto (resa = 100 %) che venne ulteriormente purificato per precipitazione da CH<sub>3</sub>CN/Et<sub>2</sub>O. Si ottennero 600 mg di prodotto (resa = 68 %); Pf = 150 °C (decomp); <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 300 MHz) δ 5.4 (m, 1H), 4.1 (m, 2H), 3.75 (dd, 1H), 3.55 (d, 1H), 3.1 (s, 9H), 2.7 (m, 2H), 1.5 (m, 2H), 1.2 (brs, 12H), 0.7 (brt, 3H); Massa FAB = 332 [M<sup>+</sup>]; A.E. conforme per C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>CINO<sub>5</sub>: KF = 1.7 % H<sub>2</sub>O; TLC: gel di silice, CHCl<sub>3</sub>: MeOH 1:1, R<sub>f</sub> = 0.10; HPLC: colonna SPHERISORB-C1(5mm, 250 x 4.6 mm), T = 30 °C, fase mobile = NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM: CH<sub>3</sub>CN 60:40, pH = 3.0 con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 5.67 min.

**Esempio 5**

**Preparazione di R,S-4-trimetilfosfonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato ST 1300**

Estere etilico dell'acido R,S-4-trimetilfosfonio-3-idrossi-butirrico ioduro

All'etilestere dell'acido R,S-4-iodo-3-idrossi-butirrico (20 g, 77.5 mmoli) venne aggiunta una soluzione 1 M di trimetilfosfina in THF (93 mL) e la reazione venne lasciata per 5 giorni sotto agitazione a T.A.. Venne aggiunto Et<sub>2</sub>O, la soluzione venne allontanata dal precipitato formatosi

per decantazione, il precipitato venne triturato con  $\text{Et}_2\text{O}$  e asciugato sotto vuoto dando 18.5 g di prodotto (resa = 71.3 %);  $\text{Pf} = 105-107\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  4.6 (m, 1H), 4.15 (q, 2H), 3.1 (m, 1H), 2.75 (m, 3H), 2.2 (d, 9H), 1.3 (t, 3H).

L'estere etilico dell'acido R,S-4-iodo-3-idrossi-butirrico è stato preparato come descritto in Tetrahedron 1990, 46,4277-4282 a partire da R,S-3-idrossi-4-butirrolattone.

Estere etilico dell'acido R,S-4-trimetilfosfonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrico ioduro

All'estere etilico dell'acido R,S-4-trimetilfosfonio-3-idrossi-butirrico ioduro (4 g, 11.97 mmoli) in DMF anidra (80 mL) venne aggiunto nonilisocianato (4.04 g, 23.86 mmoli) e la soluzione venne lasciata a  $110\text{ }^\circ\text{C}$  sotto agitazione per 7 giorni. Venne aggiunto  $\text{CHCl}_3$  (300 mL), la soluzione venne lavata con  $\text{H}_2\text{O}$  e seccata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Il residuo ottenuto per evaporazione del solvente venne ripreso con acetonitrile, il solido formatosi venne allontanato per filtrazione e il filtrato venne purificato tramite flash cromatografia usando come eluente  $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$  8-2. Si ottennero 2.07 g di prodotto come olio denso (resa = 34.3%).  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  5.4 (m, 2H), 4.15 (q, 2H), 3.15 (m, 4H), 2.8 (d, 2H), 2.2 (d, 9H), 1.5 (m, 2H), 1.2 (brs, 12H), 0.8 (brt, 3H).

R,S-4-trimetilfosfonio-3-nonilcarbamoilossibutirrato

L'estere etilico dell'acido R,S-4-trimetilfosfonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrico ioduro (2.07 g, 4.11 mmoli) venne sciolto in  $\text{HCl}$  1N (200 mL) e la soluzione venne scaldata a  $70\text{ }^\circ\text{C}$  per 3 ore. Il residuo ottenuto per

evaporazione sotto vuoto venne ripreso con MeOH e percolato su resina Amberlyst A-21 eluendo con MeOH. Si ottenne un prodotto grezzo che venne purificato per cromatografia flash usando come eluente MeOH dando 700 mg di prodotto (resa = 49 %). Pf = 123-127 °C (decomp);  $^1\text{HNMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300 MHz)  $\delta$  5.3 (m, 1H), 3.1 (m, 2H), 2.80-2.45 (m, 4H), 1.85 (d, 9H), 1.4 (m, 2H), 1.2 (brs, 12H), 0.8 (brt, 3H); Massa FAB = 348  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ ; A.E. conforme per  $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{NO}_4\text{P}$ : KF = 3.4 %  $\text{H}_2\text{O}$ ; TLC: gel di silice: MeOH,  $R_f$  = 0.18; HPLC: colonna SPHERISORB-SCX (5mm, 250 x 4 mm), T = 25 °C, fase mobile =  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM:  $\text{CH}_3\text{CN}$  40:60, pH = 4.0 con  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 5.18 min.

#### Esempio 6

Preparazione di **R,S-4-trimetilammonio-3-(ottilossicarbonil)-ammino-butirrato ST 1253 (2a, figura 1)**

stadio A

In ml 20 di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, si solubilizzarono gr 3 (0.012 moli) di estere isobutilico dell' ammino carnitina. Alla soluzione si aggiunsero ml 2.48 (0.0178 moli) di trietilammina e gr 3.6 (0.0178 moli) di cloroformiato di ottile, a sua volta sintetizzato facendo reagire l'alcol con fosgene in soluzione toluenica. Si lasciò reagire per 4 ore e trenta minuti a temperatura ambiente. Quindi si evaporò il solvente e il solido che si ottenne venne solubilizzato in acetato d'etile e filtrato. Il solvente venne portato a secchezza sotto vuoto e si ottenne un solido che venne purificato su gel di silice eluendo prima con  $\text{CHCl}_3$  al 100% e



successivamente con  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  (95:5) e (90:10). Si ottenne il prodotto 1a con una resa del 50%.

TLC: eluente ( $\text{CHCl}_3$  42/ $\text{CH}_3\text{OH}$  28/isopropanolo 7/ $\text{H}_2\text{O}$  10.5/ $\text{CH}_3\text{COOH}$  10.5) / $\text{CH}_3\text{COCH}_3$  (7:3)  $R_f = 0.8$

HPLC: Sperisorb-SCX (5 mm, 250 x 4 mm); eluente:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  50mM 60% /  $\text{CH}_3\text{CN}$  40%; pH = 4.0; rivelatori: UV 205 nm; RI; tempo di ritenzione = 8.6 min.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ); 300 MHz;  $\delta$  4.56-4.46 (m, 1H), 4.12-4.02 (m, 2H), 3.94-3.88 (m, 2H), 3.66-3.5 (m, 2H), 3.4 (s, 9H), 2.74-2.66 (m, 2H), 2-1.86(m, 1H), 1.68-1.56 (t, 2H), 1.2-1.4 (m, 12H), 0.9-0.7 (d, 6H), 0.6-0.3 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $\text{C}_{20}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}$

stadio B

L'estere 1a venne idrolizzato su colonna di resina IRA 402 attivata come  $\text{OH}^-$  eluendo con acqua. Si portò a secchezza l'acqua; il solido ottenuto venne triturato con acetone e poi filtrato. Si ottenne come solido bianco ST 1253 con la resa del 94%

TLC:  $\text{CHCl}_3$  42/ $\text{CH}_3\text{OH}$  28/isopropanolo 7/ $\text{H}_2\text{O}$  10,5/ $\text{CH}_3\text{COOH}$  10,5;  $R_f = 0.65$

HPLC: SGE-SCX (5mm, 250 x 4 mm) ; fase mobile :  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  0,05 M 60% /  $\text{CH}_3\text{CN}$  40%; rivelatori:UV 205 nm;RI; Tempo di ritenzione = 9.0 min.

$^1\text{H}$  NMR: ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 300 MHz;  $\delta$  4.4 (m, 1H), 4.05 (t, 2H), 3.5 (d, 2H), 3.2 (s, 9H), 2.4 (d, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.2-1.4 (m, 12H), 0.95-0.85 (t, 3H)



P.F.dec. 170°C

A.E.= conforme per  $C_{16}H_{32}N_2O_4$

KF= 1.74%  $H_2O$

**Esempio 7: preparazione di R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossi-carbonil)-ammino-butirrato ST 1285 (2b, figura 1)**

stadio A

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio 6 stadio A, utilizzando il cloroformiato di nonile.

Resa: 50%

TLC:eluente: $CHCl_3$ /iPrOH/MeOH/ $H_2O$ / $CH_3COOH$

(42:7:28:10.5:10.5)/acetone (7:3) ,  $R_f$  = 0.71

HPLC: SGE-SCX (5mm, 250 x 4 mm); eluente: $NH_4H_2PO_4$  50 mM 60%/ $CH_3CN$  40%; pH = 4; Rivelatori:UV 205 nm; RI; Tempo di ritenzione = 10.417 min.

$^1H$  NMR: 300 MHz ( $CD_3OD$ ), d 4.54-4.44 (m, 1H), 4.1-4.02 (m, 2H), 3.96-3.86 (m, 2H), 3.6 -3.5 (m, 2H), 3.2 (s, 9H), 2.72 - 2.66 (m, 2H), 2-1.86 (m, 1H), 1.66-1.56 (m, 2H), 1.38-1.26 (m, 14H), 0.96-0.94 (d, 6H), 0.92-0.86 (t, 3H)

stadio B

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio 6 stadio B. Si ottenne ST 1285 con resa dell' 80%

TLC eluente: $CHCl_3$  4.2/isPrOH 0.7/ $CH_3OH$  2.8/ $H_2O$  1.05/ $CH_3COOH$  1.05

$R_f$  = 0.62

P.F.= dec. 160°C

HPLC : SGE-SCX (5 mm, 250 x 4 mm); eluente:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  50 mM 60% /  $\text{CH}_3\text{CN}$  40%; rivelatori : UV 205 nm, RI; Tempo di ritenzione = 7.56 min.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 300 MHz;  $\delta$  4.5-4.35 (m, 1H), 4.1-4.0 (t, 2H), 3.55-3.45 (d, 2H), 3.2 (s, 9H), 2.45-2.35 (d, 2H), 1.7-1.5 (m, 2H), 1.4-1.2 (m, 14H), 0.9-0.8 (t, 3H)

A.E. conforme per  $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4$ ;

KF=1.3%  $\text{H}_2\text{O}$

### Esempio 8

#### Preparazione di R,S-4-trimetilammonio-3-ottilossi-butirrato

#### ST1207( 6a, figura 2)

stadio A

Vennero solubilizzati gr 39 (0.3 moli) di alcol ottilico in ml 25 di toluene e addizionati alla temperatura di  $-15^\circ\text{C}$  di ml 14.5 (0.107 moli) di g-cloroacetoacetato d'etile e ml 8 di cloruro di tionile. Terminata l'aggiunta si lasciò reagire a t.a. per 4 ore. Si aggiunse quindi alla reazione acetato di etile e la soluzione venne lavata per tre volte con NaOH 1N e successivamente con acqua. La fase organica venne trattata con sodio solfato anidro, filtrata e portata a secco. Il prodotto venne purificato per cromatografia su colonna di gel di silice usando un gradiente da solo Esano a Esano/ $\text{Et}_2\text{O}$  95:5 . Si ottenne 1a con la resa dell'80%.

TLC:Esano/Etere Etilico 85/15  $R_f=0.75$

$^1\text{H}$  NMR:( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz  $\delta$  4.2-4.09 (q, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.4-3.5 (dd, 2H), 2.85 (s, 2H), 1.60-1.58 (m, 2H), 1.4-1.2 (m, 10H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $C_{22}H_{33}ClO_4$

stadio B

A una miscela di 0.066 moli (gr 26.8) del composto proveniente dallo stadio A e ml 13.5 di trietilsilano a 0°C vennero aggiunti goccia a goccia ml 9 di  $BF_3 \cdot Et_2O$ . Terminata l'aggiunta si mise a riflusso per 4 ore. Si raffreddò; si aggiunse etere e la soluzione venne lavata due volte con NaOH 1N, poi con acqua; la fase organica venne essiccata su  $Na_2SO_4$  anidro, filtrata e portata a secco sotto vuoto. Si ottenne un olio che fu purificato per cromatografia su gel di silice usando un gradiente da solo Esano a Esano/ $Et_2O$  95:5 si ottenne 2a con resa del 70%.

TLC:Esano/Etere Etilico 90/10  $R_f=0.47$

$^1H$  NMR:( $CDCl_3$ ) 300 MHz d 4.2-4.09 (dd, 2H), 4.0-3.85 (m, 1H), 3.60-3.50 (dd, 2H), 3.62-3.40 (m, 2H), 2.70-2.50 (dd, 2H), 1.55-1.50 (m, 2H), 1.4-1.2 (m, 10H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E.= conforme per  $C_{14}H_{27}ClO_3$

stadio C

Il composto proveniente dallo stadio B (0.041 moli; gr 11.4) venne solubilizzato in ml 100 di DMF, e addizionato di gr 5.2 di  $NaN_3$  (0.08 moli) e di una quantità catalitica di tetrabutylammonio ioduro.

La reazione venne tenuta per tre notti alla temperatura di 60°C. La soluzione venne portata a secco; si ottenne una soluzione densa scura che fu purificata per cromatografia su gel di silice usando un gradiente da solo Esano a Esano/ $Et_2O$  95:5: 3a con resa 83%

TLC:Esano/Etere Etilico 95/5  $R_f=0.23$



$^1\text{H}$  NMR:( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz d 4.2-4.09 (dd, 2H), 4.0-3.80 (m, 1H), 3.60-3.40 (dd, 2H), 3.40-3.20 (dd, 2H), 2.70-2.40 (dd, 2H), 1.60-1.40 (m, 2H), 1.4-1.1 (m, 10H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$

stadio D

Si solubilizzarono 0.054 moli (gr 15.39) del composto proveniente dallo stadio C in ml 31 di  $\text{CH}_3\text{COOH}$  e la soluzione risultante venne sottoposta a idrogenazione catalitica con Pd/C al 10% a 60 psi per 7 ore. Il procedere della reazione venne seguito tramite TLC, fino a scomparsa del prodotto di partenza (esano/etere 95:5).

Si aggiunsero quindi ml 4.6 (0.167 moli) di aldeide formica, Pd/C al 10% e la miscela così ottenuta venne sottoposta a idrogenazione a 30 psi, per due giorni. Si filtrò il catalizzatore e si portò a secco. Si ottenne un liquido giallino che venne ripreso con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; si fecero dei lavaggi prima con NaOH 1N e poi con NaCl soluzione satura; la fase organica venne essiccata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrata e portata a secco. Si ottenne come olio denso 4a con resa 98%

TLC:AcOEt/ MeOH/ $\text{NH}_3$  (90 :10:3)  $R_f$  = 0.42

$^1\text{H}$  NMR:( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz d 4.2-4.09 (dd, 2H), 3.85-3.80 (m, 1H), 3.60-3.40 (dd, 2H), 2.65-2.40 (dd, 2H), 2.40-2.20 (dd, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.60-1.40 (m, 2H), 1.4-1.1 (m, 10H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{NO}_3$

stadio E

Si solubilizzarono 0.053 moli (gr 15.21) del prodotto ottenuto dallo stadio

D in ml 98 di THF e si addizionarono ml 8 di  $\text{CH}_3\text{I}$ . La reazione venne lasciata per una notte a temperatura ambiente. Si portò a secchezza sotto vuoto ottenendo 5a come solido giallino: resa : 98%.

TLC:AcOEt/ MeOH/ $\text{NH}_3$  (90 :10:3)  $R_f = 0.10$

$^1\text{H}$  NMR:( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz d 4.45-4.3 (m, 1H), 4.2-4.09 (dd, 2H), 3.75-3.30 (m, 2H), 3.5 (s, 9H), 2.75-2.60 (dd, 2H), 1.60-1.45 (m, 2H), 1.30-1.15 (m, 10H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $\text{C}_{16}\text{H}_{39}\text{INO}_3$

stadio F

Il prodotto ottenuto dallo stadio precedente, venne idrolizzato su colonna di resina IRA 402 attivata come  $\text{OH}^-$  ed eluendo con acqua. Si portò a secchezza l'acqua; il solido ottenuto venne trattato per tre volte con isopropanolo. Si ottenne l' ST1207 come solido bianco: resa:93 %.

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{iPrOH}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:7:28:10.5:10.5)  $R_f = 0.7$

Pf: dec.  $106^\circ\text{C}$

$^1\text{H}$  NMR:(MeOD) 300 MHz d 4.30-4.15 (m, 1H), 3.70-3.60 (dd, 1H), 3.50-3.40 (dd, 1H), 3.50-3.45 (m, 2H), 3.20 (s, 9H), 2.75-2.65 (dd, 1H), 2.20-2.10 (dd, 1H), 1.60-1.50 (m, 2H), 1.40-1.20 (m, 10H), 0.90-0.80 (t, 3H).

HPLC: SGE-SAX; ((5 mm, 250 x 4 mm) fase mobile :  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  0,25 M 30% /  $\text{CH}_3\text{CN}$  70%; rivelatori:UV 205 nm;RI; Flusso =0.75 ml/min Tempo di ritenzione = 5.85 min.

MS-Fab+ matrice glicerolo = 274

A.E. = conforme per  $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{NO}_3$

KF= 5.7% H<sub>2</sub>O

### Esempio 9

#### Preparazione di R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilossi-butirrato

##### ST 1228( 6b, figura 2)

###### stadio A

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio 8 stadio A utilizzando l'alcol tetradecilico. Si ottenne il composto 1b con resa del 73%

TLC:esano/etere (95:5) R<sub>f</sub> = 0.63

<sup>1</sup>H NMR:(CDCl<sub>3</sub>) 300 MHz d 4.2-4.09 (q, 2H), 3.80 (s, 2H) 3.4-3.5 (dd, 2H), 2.85 (s, 2H), 1.60-1.58 (m, 2H), 1.4-1.2 (m, 22H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E.= conforme per C<sub>34</sub>H<sub>67</sub>ClO<sub>4</sub>

###### stadio B

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio 8 stadio B. Si ottenne il composto 2b con resa del 72%

TLC : esano/etere (95:5) R<sub>f</sub> = 0.4

<sup>1</sup>H NMR:(CDCl<sub>3</sub>) 300 MHz d 4.2-4.09 (dd, 2H), 4.0- 3.85 (m, 1H), 3.60-3.50 (dd, 2H), 3.62-3.40 (m, 2H), 2.70-2.50 (dd,2H), 1.55-1.50 (m, 2H), 1.4-1.2 (m, 22H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E. = conforme per C<sub>20</sub>H<sub>39</sub>O<sub>3</sub>

###### stadio C

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio 8 stadio C. Si ottenne il composto 3b con resa del 79%.

TLC: esano /etere (90:10) R<sub>f</sub>= 0.36

$^1\text{H}$  NMR:( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz d 4.2-4.09 (dd, 2H), 4.0-3.80 (m, 1H), 3.60-3.40 (dd, 2H), 3.40-3.20 (dd, 2H), d 2.70-2.40 (dd, 2H), 1.60-1.40 (m, 2H), 1.4-1.1 (m, 22H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_3$

stadio D

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio 8 stadio D. Si ottenne il composto 4b con resa del 98%

TLC:AcOEt/ MeOH/ $\text{NH}_3$  (90 :10:3)  $R_f$  = 0.72

$^1\text{H}$  NMR:( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz d 4.2-4.09 (dd, 2H), 3.85-3.80 (m, 1H), 3.60-3.40 (dd, 2H), 2.65-2.40 (dd, 2H), 2.40-2.20 (dd, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.60-1.40 (m, 2H), 1.4-1.1 (m, 22H), 0.90-0.80 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $\text{C}_{22}\text{H}_{45}\text{NO}_3$

stadio E

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio 8 stadio E. Si ottenne il composto 5b con resa del 99%

TLC:AcOEt/ MeOH/ $\text{NH}_3$  (90 :10:3)  $R_f$  = 0.15

$^1\text{H}$  NMR:( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz d 4.45-4.3 (m, 1H), 4.2-4.09 (dd, 2H), 3.75-3.30 (m, 2H), 3.5 (s, 9H), 2.75-2.60 (dd, 2H), 1.60-1.45 (m, 2H), 1.30-1.15 (m, 22H), 0.90-0.80 (t, 3H)

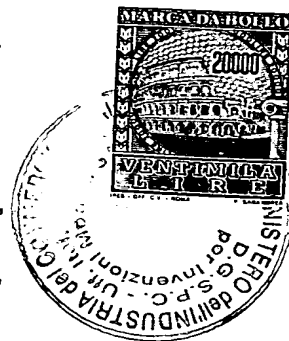
AE= conforme per  $\text{C}_{23}\text{H}_{48}\text{INO}_3$

stadio F

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio 8 stadio F. Si ottenne il composto ST 1228 con resa del 99%

TLC:  $\text{CHCl}_3$ /iPrOH/MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$ / $\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:7:28:10.5:10.5)  $R_f$  = 0.6





Pf: fonde e decompone a 106°C

$^1\text{H}$  NMR:(DMSO- $\text{D}_6$ ) 300 MHz d 4.10-4.0 (m, 1H), 3.60-3.20 (m, 4H), 3.05 (s, 9H), 2.40-2.30 (dd, 1H), 1.80-1.70 (dd, 1H), 1.50-1.40 (m, 2H), 1.30-1.15 (m, 22H), 0.90-0.80 (t, 3H)

HPLC: SGE-SCX (5mm, 250 x 4 mm); fase mobile :  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  0,05 M 40% /  $\text{CH}_3\text{CN}$  60%; rivelatori:UV 205 nm;RI; Flusso =0.75 ml/min  
Tempo di ritenzione = 4.38 min.

MS-Fab+ matrice glicerolo = 358.3

A.E. = conforme per  $\text{C}_{21}\text{H}_{43}\text{NO}_3$

KF= 6.4%  $\text{H}_2\text{O}$

### Esempio 10

**Preparazione di R,S-1-guanidinio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano ST 1263 (10, figura 3B)**

stadio A

Vennero solubilizzati gr 6.65 (0.0179 moli) dell' intermedio preparato nell'esempio 9 (stadio C della figura 2), in ml 10 di metanolo e alla soluzione vennero aggiunti ml 10 di NaOH 4 N . Si lasciò reagire per 16 ore a temperatura ambiente. La soluzione venne addizionata con ml 20 di HCl 6 N e quindi estratta con AcOEt. La fase organica venne essiccata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrata e concentrata sotto vuoto. Si ottenne 1 come solido bianco con resa del 95.6%.

TLC:  $\text{Et}_2\text{O}$ /esano 1:1;  $R_f$  = 0.5

P.F. 42°-45°C

$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ); d 3.9-3.8 (m, 1H), 3.56-3.48 (m, 2H), 3.42-

3.26 (dd, 2H), 2.68-2.5 (m, 2H), 1.6-1.5 (m, 2H), 1.4-1.2 (s, 22H), 0.9-0.8 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $C_{18}H_{35}N_3O_3$

stadio B

Ad una soluzione di gr 2.79 (8.19 mmoli) del composto proveniente dallo stadio A, di ammino propionitrile (gr 0.58 = 8.2 mmoli) e DEPC (dietilfosfocianidato) (ml 1.71) in ml 4.2 di DMF anidra, si aggiunsero a 0° C e goccia a goccia ml 4.96 di TEA. La reazione venne tenuta per 1 ora a temperatura ambiente. Si evaporò il solvente; si solubilizzò in AcOEt e si lavò con  $H_2O$  per due volte, quindi con una soluzione satura di NaCl. La fase organica venne essiccata su  $Na_2SO_4$ , filtrata e concentrata sotto vuoto. Si ottenne 2 che venne purificato su colonna di gel di silice eluendo con esano:etere (7:3 / 1:1 / 3:7) resa: 71%.

TLC: eluente  $Et_2O$  100%  $R_f$  = 0.42

$^1H$  NMR: 300 MHz ( $CDCl_3$ ) d 6.6-6.4 (m, 1H), 3.9-3.8 (m, 1H), 3.6 -3.4 (m, 5H); 3.3-3.2 (dt, 1H), 2.7-2.6 (t, 2H), 2.6-2.4 (dd, 2 H), 1.6-1.5 (m, 2H), 1.4-1.2 (m, 22H), 0.9-0.8 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $C_{21}H_{39}N_5O_2$

stadio C

Ad una soluzione di gr 2.99 di prodotto ottenuto dallo stadio precedente ( 7.62 mmoli) in ml 70 di THF si aggiunsero gr 2.99 (0.0114 moli) di trifenilfosfina e ml 0.2 di acqua. Si lasciò reagire per una notte a temperatura ambiente. Si portò a secchezza il solvente sotto vuoto e si ottenne 3 che fu purificato per cromatografia su gel di silice eluendo

prima con AcOEt 100% e successivamente con AcOEt/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub> 7:3:0.3: resa: 65%.

TLC: AcOEt/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub> (7:3:0.3) R<sub>f</sub> = 0.26

<sup>1</sup>H NMR: 300 MHz (CD<sub>3</sub>OD) δ 3.78-3.7 (m, 1H), 3.58-3.48 (m, 4H), 2.8-2.7 (dd, 2H), 2.7-2.6 (m, 2H), 2.5-2.3 (dd, 2H), 1.6-1.5 (m, 2H), 1.4-1.3 (m, 22H), 0.95-0.8 (t, 3 H)

A.E. = conforme per C<sub>21</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

stadio D

Si fecero reagire gr 1.69 (4.6 mmoli) del composto proveniente dallo stadio C con gr 1.2 di (BOC)<sub>2</sub>O (5.52 mmoli) e ml 9.2 di NaOH 1 N , per 30 minuti a temperatura ambiente. Si versò la miscela di reazione in AcOEt e si effettuarono quattro lavaggi con HCl 1N, quindi con acqua e con una soluzione satura di NaCl. La fase organica venne essiccata su sodio solfato anidro, filtrata e portata a secco. Si ottenne 4 come solido bianco: resa: 100%.

TLC: Et<sub>2</sub>O 100% R<sub>f</sub> = 0.26

PF= 83°-84° C

<sup>1</sup>H NMR: 300 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.2-7.0 (m, 1H), 4.9-4.8 (m, 1H), 3.8-3.6 (m, 1H), 3.5-3.4 (dt, 4H), 3.2-3.0 (m, 2H), 2.6 (t, 2H), 2.4 (d, 2H), 1.5 (m, 2H), 1.4 (s, 9H), 1.4-1.2 (m, 22H), 0.9-0.8 (t, 3 H)

A.E. = conforme per C<sub>26</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

stadio E

Una soluzione di gr 1.19 (2.56 mmoli) del composto proveniente dallo stadio precedente, in ml 12 di THF anidro, sotto argon, venne

addizionata nell'arco di tre giorni, di gr 3.062 di trifenilfosfina, ml 1.54 di trietilsililazido e ml 1.49 di DEAD (dietilazodicarbossilato) (a 0°C e goccia a goccia), fino a scomparsa del prodotto di partenza. La miscela venne quindi trattata con una soluzione acquosa di cerio ammonio nitrato e diluita con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Si lasciò sotto agitazione per 2 ore; si separò la fase organica, che venne lavata con una soluzione satura di NaCl, seccata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentrata sotto vuoto. Il residuo fu cromatografato su gel di silice eluendo con esano/AcOEt (9:1 /8:2 /7:3). Si ottenne 5 con resa del 66%.

TLC: esano/AcOEt (1:1) R<sub>f</sub> = 0.34

<sup>1</sup>H NMR: 300 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ 4.95-4.8 (m, 1H), 4.7-4.5 (m, 2H), 3.9-3.8 (m, 1H), 3.55-3.45 (m, 1H), 3.45-3.32 (m, 1H), 3.32-3.2 (m, 1H), 3.20-3.0 (dd, 2H), 3.10-3.0 (t, 2H), 3.10-3.0 (m,; 1H; CH); δ 1.45 -1.35 (m, 1H), 1.2 (m, 22H), 0.9-0.8 (t, 3H)

A.E. conforme per C<sub>25</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>

stadio F

Una soluzione di gr 0.969 (1.97 mmoli) di prodotto proveniente dallo stadio E, in ml 13.09 di THF, venne addizionata di ml 13.1 di HCl 3N. La miscela di reazione fu lasciata sotto agitazione a 50°C per 2 ore. Si portò a secco; il residuo venne ripreso con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e trattato con una soluzione di NaOH 1N. Si separò la fase organica che venne essiccata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrata e concentrata sotto vuoto a secchezza. Si ottenne 6 con resa 92%.

TLC: AcOEt/MeOH/NH<sub>3</sub> (9:1:0.3) R<sub>f</sub> = 0.31



$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) d 4.78-4.58 (m, 2H), 3.8-3.7 (m, 1H), 3.5-3.4 (m, 1H), 3.30-3.24 (m, 1H), 3.24-3.18 (m, 1H), 3.24-3.18 (dd, 2H), 3.05-3.0 (dd, 2H), 3.0-2.6 (dd, 2H), 1.4 (m, 2H), 1.2 (m, 22H), 0.9-0.8 (t, 3H)

A.E. conforme per  $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}$

stadio G

Ad una soluzione di gr 2.78 (7.1 mmoli) del composto proveniente dallo stadio precedente in ml 20 di MeOH anidro, vennero aggiunti, nell'arco di tre giorni, gr 2,34 di acido ammino immino metansolfonico (a sua volta sintetizzato con tecniche note). La sospensione ottenuta, venne concentrata sotto vuoto quindi trattata con NaOH 1N e lasciata sotto agitazione per 30 minuti.

Il solido venne filtrato, lavato prima con acqua e poi con acetone. Si ottenne ST1263 con resa del 45%.

TLC: AcOEt/MeOH/ $\text{NH}_3$  (7:3:0.3)  $R_f = 0.22$

Pf = decompone a  $240^\circ\text{C}$

$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):d 3.90-3.75 (m, 1H), 3.6-3.4 (m, 2H), 3.40-3.20 (m, 2H), 3.20-3.10 (dd, 1H), 2.95-3.85 (dd, 1H), 1.4 (m, 2H), 1.2 (s, 22H), 0.9-0.8 (t, 3H)

HPLC: Spherisorb-C1 (5 mm, 250 x 4.6 mm); fase mobile:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  0.05 M 35% -  $\text{CH}_3\text{CN}$  65%; pH=3; Rivelatori: UV 205nm; flusso 0.75 ml/min Tempo di ritenzione = 5.51 min.

MS-Fab+ matrice glicerolo = 382

A.E. = conforme per  $\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{O}$

**Esempio 11**

**Preparazione di R,S-1-trimetilammonio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano ST 1287 (9, figura 3B)**

stadi A - F

I prodotti vennero sintetizzati secondo le tecniche descritte nell' esempio 10 dallo stadio A fino allo stadio F.

stadio H

Il composto ottenuto dallo stadio F dell'esempio 10 (gr 2.79 = 7.14 mmoli) venne sospeso in ml 18 di  $H_2O$  e addizionato di ml 1.47 di  $HCOOH$  e ml 1.57 di  $H_2CO$ . Si fece reagire per una notte a refluxo. La miscela di reazione venne raffreddata e addizionata con  $CH_2Cl_2$ ; il pH venne portato al valore di 9 con  $NaOH$  0.5 N. Si fecero tre estrazioni con  $CH_2Cl_2$ . La fase organica venne lavata con  $NaOH$  0.5 N,  $H_2O$  ed essiccata su  $Na_2SO_4$  anidro e quindi portata a secco. Si ottenne il solido 7 con resa 100%.

TLC:  $AcOEt/MeOH/NH_3$  (9:1:0.3)  $R_f = 0.58$

$^1H$  NMR: ( $CDCl_3$ ) 300 MHz: d 4.70-4.50 (m, 2H), 3.8-3.7 (m, 1H), 3.5-3.4 (m, 1H), 3.30-3.20 (m, 2H), 3.10 (m, 3H), 2.45-2.35 (m, 2H), 2.30 (s, 6H), 1.40-1.30 (m, 2H), 1.2-1.0 (m, 22H), 0.9-0.8 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $C_{23}H_{44}N_6O$

stadio I

Gr 2.99 del composto ottenuto nello stadio H ( 7.14 mmoli), vennero solubilizzati in THF e addizionati di ml 2.5 di  $CH_3I$ . Si lasciò reagire per tre ore a t.a. Si portò a secco e il solido ottenuto venne lavato a caldo con etere, lasciato sotto agitazione per una notte e quindi filtrato. Si

ottenne il solido 8 con la resa del 100%.

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{IsPrOH}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (4.2 / 0.7/ 2.8/ 1.05/ 1.05)  $R_f$  = 0.73

$^1\text{H}$  NMR: ( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz: d 4.90-4.80 (m, 2H), 4.70-4.55 (m, 1H), 4.40-4.25 (m, 1H), 3.80-3.60 (m, 2H), 3.60-3.40 (m, 3H), 3.30 (s, 9H), 3.30-3.10 (m, 2H), 1.60-1.40 (m, 2H), 1.3-1.1 (m, 22H), 0.9-0.8 (t, 3H)

MS-Fab+ matrice glicerolo = 436

A.E. = conforme per  $\text{C}_{24}\text{H}_{47}\text{IN}_6\text{O}$

stadio L

Si solubilizzarono gr 2.99 (5.33 mmoli) del composto proveniente dallo stadio precedente in MeOH e si passarono su resina IRA 402 sotto forma  $\text{OH}^-$  condizionata in MeOH. Si ottenne un solido ST1287, che venne successivamente triturato con AcOEt: resa 88%.

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{isPrOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:28:7:10.5:10.5)/acetone (8:2)  $R_f$  = 0.73

Pf = dec.  $180^\circ\text{C}$

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{IsPrOH}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (4.2 / 0.7/ 2.8/ 1.05/ 1.05)  $R_f$  = 0.73

$^1\text{H}$  NMR: ( $\text{CDCl}_3$ ) 300 MHz: d 4.30-4.20 (m, 1H), 3.90-3.70 (m, 2H), 3.60-3.55 (m, 1H), 3.50-3.30 (m, 4H), 3.25 (s, 9H), 3.0-2.9 (m, 1H), 1.60-1.40 (m, 2H), 1.3-1.1 (m, 22H), 0.9-0.8 (t, 3H)

KF = 1%

HPLC: Spherisorb-C1(5 mm, 250 x 4.6 mm); eluente:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  50mM/ $\text{CH}_3\text{CN}$  (35/65); pH=3; flusso:0.75ml/min; Tempo di ritenzione =

5.18 min.

MS-Fab+ matrice glicerolo = 382

A.E. conforme per  $C_{21}H_{43}N_5O$

### Esempio 12

#### Preparazione di R,S-3-chinuclidinio-2-(tetradecilossicarbonil)- ossi- 1-propanfosfonato monobasico ST 1260 (4b, figura 4)

stadio A

In ambiente anidro e a  $-70^{\circ}C$ , venne preparata una soluzione di dibenzilfosfito (5.8 gr., 0.022 moli) in THF in cui fu gocciolata una soluzione in esano, di BuLi 1.6M (14 ml, 0.022 moli). Dopo 15 minuti, furono aggiunti 1.8 ml di epibromidrina disciolta in 5 ml di THF (0.022moli). Terminata l'aggiunta, molto lentamente, venne gocciolato il  $BF_3$  eterato (3.6 ml, 0.022 moli). La reazione fu lasciata proseguire a  $70^{\circ}C$  per altre 3h. Scaduto il termine fu aggiunta alla miscela una soluzione satura di ammonio cloruro e quindi si lasciò salire la temperatura fino a quella ambiente. Questa soluzione fu estratta più volte con AcOEt e le fasi organiche riunite furono trattate con  $NaHCO_3$  soluzione satura e anidificate su sodio solfato anidro. Concentrando la soluzione organica si ottenne un olio dal quale, dopo purificazione su colonna cromatografia, (eluente AcOEt/ Esano 1:1) si recuperarono gr 1.1 di dibenzilfosfito non reagito e gr 5.3 di prodotto 1: resa 60 %.

TLC: AcOEt/Esano 7:3;  $R_f = 0.54$

$^1H$  NMR: 300 MHz ( $CD_3OD$ ),  $\delta$  7.4-7.2 (m, 10H), 5.1-4.9 (m, 4H), 4.2-4.0 (m, 1H), 3.5-3.3 (dd, 2H), 2.2-2.0 (m, 2H)



MS-Fab+ matrice glicerolo = 399,400,401,402

A.E. = conforme per  $C_{17}H_{20}BrO_4P$

stadio B

Una soluzione al 10% di 1 (2 gr, 5 mmoli) fu raffreddata a 0°C; a questa temperatura fu gocciolata una soluzione di ml 1,4 di TEA (triethylamina) (10 mmoli) e gr 0,62 di DMAP (dimetilamminopiridina) (5 mmoli). Subito dopo, si aggiunsero 5.2 mmoli di cloroformiato di tetradecile e quindi si lasciò salire la temperatura fino a quella ambiente. La reazione fu seguita su TLC e lavorata alla scomparsa completa di 1. Si aggiunse altro cloroformio e si lavò la fase organica con HCl 1N e acqua. Dopo aver seccato su sodio solfato anidro, la soluzione cloroformica fu concentrata sotto vuoto ottenendo un olio che venne ulteriormente purificato per flash cromatografia usando come eluente Esano/EtOH 7:3. Si ottenne 2b con resa del 75%.

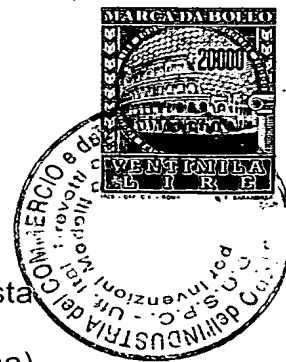
TLC = AcOEt/Esano (3:7)  $R_f$  = 0.31

$^1H$  NMR: 300 MHz ( $CDCl_3$ );  $\delta$  7.4-7.2 (m, 10H), 5.1- 4.9 (m, 5H), 4.1-3.9 (m, 2H), 3.6-3.4 (dd, 2H), 2.4-2.2 (m, 2H), 1.6 -1.4 (m, 2H), 1.3-1.1 (m, 22H), 0.9- 0.7 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $C_{32}H_{48}BrO_6P$

stadio D

Il composto proveniente dallo stadio precedente (gr 6.39 = 10 mmoli), venne prima solubilizzato in DMF (12 ml), poi si aggiunse la chinuclidina gr 2.2 (20 mmoli) insieme al TBAI (tetrabutylammonio ioduro) in quantità catalitiche (1% in peso rispetto al substrato). La reazione venne



condotta ad una temperatura di 50° C fino a scomparsa del prodotto di partenza. Al termine della reazione, la soluzione fu concentrata all'alto vuoto ottenendo un semisolido contenente il prodotto. Quest'ultimo fu isolato e purificato tramite flash cromatografia su gel di silice usando come eluente  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  8:2.

Si ottenne 3b con resa del 15%.

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{isPrOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:28:7:10.5:10.5)/acetone (8:2)  $R_f = 0.8$

$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz (MeOD);  $\delta$  7.4-7.1 (m, 50H), 5.3- 5.1 (m, 1H), 4.9-4.8 (d, 2H), 4.1-4.0 (m, 2H), 3.8-3.4 (m, 2H), 3.4-3.2 (m, 6H), 2.2-1.7 (m, 9H), 1.6 -1.4 (m, 2H), 1.3-1.1 (m, 22H), 0.9- 0.7 (t, 3H)

MS-Fab + matrice glicerolo = 580

A.E. = conforme per  $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{NO}_6\text{P}$

stadio E

Dopo aver disciolto in MeOH il composto proveniente dallo stadio precedente, venne aggiunto il Pd/C al 10% (in quantità del 5 % in peso rispetto al substrato); si ottenne una dispersione che fu posta sotto pressione di  $\text{H}_2$  (60 psi) a temperatura ambiente per 18 ore. Scaduto il termine, la soluzione venne filtrata e concentrata. Si ottenne ST 1260 senza ulteriori purificazioni, con resa del 99%.

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{isPrOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:28:7:10.5:10.5)/acetone (8:2)  $R_f = 0.57$

$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz ( $\text{D}_2\text{O}$ );  $\delta$  5.5- 5.3 (m, 1H), 4.2-4.1 (m, 2H), 4.0-3.4 (m, 2H), 3.6-3.4 (m, 6H), 2.2 -1.7 (m, 9H), 1.6 -1.4 (m, 2H), 1.3-1.1 (m, 22H),

0.9- 0.7 (t, 3H).

HPLC: Spherisorb-C1 (5 mm, 250 x 4.6 mm); fase mobile :  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  75 mmol 60 /  $\text{CH}_3\text{CN}$  40; rivelatori:UV 205 nm; RI; Flusso = 0.75 ml/min

Tempo di ritenzione = 16.53 min.

MS-Fab + matrice glicerolo = 490

KF= 7%  $\text{H}_2\text{O}$

A.E. = conforme per  $\text{C}_{25}\text{H}_{48}\text{NO}_6\text{P}$

### Esempio 13

#### **Preparazione di R,S-3-trimetilammonio-2-(nonilamminocarbonil)-ossi-1-propanfosfonato monobasico ST 1286 (4a, figura 4)**

stadio A

Il prodotto venne sintetizzato come descritto nell'esempio 12 stadio A.

stadio C

Si solubilizzarono gr 4 di 1 (10 mmoli) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (soluzione al 10%) e si aggiunsero, a t.a. 20 mmoli (gr 3.38) del nonilisocianato e ml 1,6 di  $\text{BF}_3$  eterato.

La reazione venne lavorata dopo 30 minuti, aggiungendo prima altro  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e poi lavando più volte con NaOH 1 N la fase organica. Il prodotto fu purificato tramite flash cromatografia su gel di silice usando come eluente Esano-EtOAc 7:3. Si ottenne 2a con resa dell'85%.

TLC = AcOEt/Esano (6:4)  $R_f$  = 0.28

$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ );  $\delta$  7.4-7.2 (m, 10H), 5.1- 4.9 (m, 5H), 4.6-4.2 (m, 1H), 3.7-3.5 (dd, 2H), 3.2-3.0 (m, 2H), 2.4-2.2 (m, 2H), 1.5 -1.3 (m, 2H), 1.3-1.1 (m, 12H), 0.9- 0.7 (t, 3H)

A.E. = conforme per  $C_{27}H_{40}BrNO_5P$

stadio F

Il composto proveniente dallo stadio precedente (gr 5.68 = 10 mmoli), venne prima solubilizzato in DMF (11 ml) , insieme al TBAI (tetrabutylammonio ioduro) in quantità catalitiche (1% in peso rispetto al substrato). Questa soluzione fu poi saturata con trimetilammina gassosa. La reazione venne condotta ad una temperatura di 50° C fino a scomparsa del prodotto di partenza. Al termine della reazione, la soluzione fu concentrata all'alto vuoto ottenendo un semisolido contenente il prodotto. Quest'ultimo fu isolato e purificato tramite flash cromatografia su gel di silice usando un gradiente da solo  $CH_2Cl_2$  a  $CH_2Cl_2:MeOH$  1:1. Si ottenne 3a con resa del 25 %.

TLC:  $CHCl_3/MeOH/isPrOH/H_2O/CH_3COOH$  (42:28:7:10.5:10.5)/acetone (8:2)  $R_f = 0.73$

$^1H$  NMR: 300 MHz ( $CDCl_3$ );  $\delta$  7.5- 7.2 (m, 5H), 5.5- 5.4 (m, 1H), 4.9-4.8 (m, 4H), 4.0-3.6 (m, 2H), 3.2-3.1(s, 9H), 2.2-1.8 (m, 2H), 1.5 -1.4 (m, 2H), 1.4-1.2 (m, 12H), 0.9- 0.7 (t, 3H)

MS-Fab + matrice glicerolo = 457

A.E. = conforme per  $C_{27}H_{42}N_2O_5P$

stadio G

Dopo aver disciolto in MeOH il composto proveniente dallo stadio precedente, venne aggiunto il Pd/C al 10% (5% in peso rispetto al substrato); si ottenne una dispersione che fu posta sotto pressione di  $H_2$  (60 psi) a temperatura ambiente per 18 ore. Scaduto il termine la

soluzione venne filtrata e concentrata. Si ottenne ST 1286 senza necessità di ulteriori purificazioni, con resa del 99%.

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{isPrOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:28:7:10.5:10.5)/acetone (8:2)  $R_f = 0.31$

$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz ( $\text{D}_2\text{O}$ );  $\delta$  5.6- 5.5 (m, 1H), 4.1-3.5 (m, 2H), 3.2-3.1 (s, 9H), 3.1-3.0 (m, 2H), 2.2-1.7 (m, 2H), 1.5 -1.4 (m, 2H), 1.4-1.2 (m, 12H), 0.9- 0.7 (t, 3H)

HPLC: Spherisorb-C1 (5 mm, 250 x 4.6 mm); fase mobile:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  50 mmol 35 /  $\text{CH}_3\text{CN}$  65; rivelatori: UV 205 nm; RI; Flusso = 0.75 ml/min

Tempo di ritenzione = 7.31 min.

MS-Fab + matrice glicerolo = 367

KF = 3 %

A.E. = conforme per  $\text{C}_{15}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$

#### Esempio 14

**Preparazione dell'acido R,S-3-piridinio-2-(nonilamminocarbonil)-ossi-1-propanfosfonico cloruro ST 1268 (4'a, figura 4)**

stadio A

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio

12 stadio A

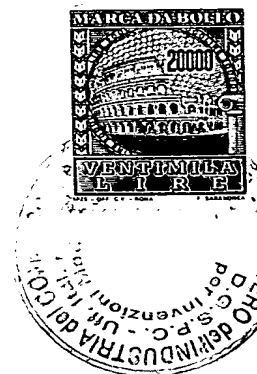
stadio C

Il prodotto venne sintetizzato secondo la tecnica descritta nell' esempio

13 stadio C

stadio H

Il composto proveniente dallo stadio precedente (gr 5.68 = 10 mmoli),



venne solubilizzato in piridina anidra (una soluzione al 50%), insieme al TBAI (tetrabutylammonio ioduro) in quantità catalitiche (1% in peso rispetto al substrato). La reazione venne condotta ad una temperatura di 50° C fino a scomparsa del prodotto di partenza. Al termine della reazione, la soluzione fu concentrata all'alto vuoto ottenendo un semisolido contenente il prodotto 3'a che fu isolato e purificato tramite flash cromatografia su gel di silice usando un gradiente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  -MeOH da 9:1 a 1:1. Resa = 20%.

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{isPrOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:28:7:10.5:10.5)/acetone (8:2)  $R_f = 0.73$

$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz ( $\text{CDCl}_3$ );  $\delta$  9.4-9.3 (d, 2H), 8.2-8.1 (t, 1H), 7.9-97.8 (t, 2H), 7.3- 7.1 (m, 5H), 5.3-5.1 (m, 3H), 4.9-4.8 (m, 2H), 3.0-2.9 (m, 2H), 2.2-1.6 (m, 2H), 1.4 -1.2 (m, 2H), 1.3-1.1 (m, 12H), 0.9- 0.7 (t, 3H)

MS-Fab+ matrice glicerolo = 477

A.E. = conforme per  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$

stadio I

Il composto proveniente dallo stadio precedente (gr 4.76 = 10 mmoli) venne solubilizzato in 100 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e alla soluzione risultante furono aggiunte 20 mmoli di TMSI (trimetilsilil ioduro). Dopo 30 minuti la reazione terminò; alla miscela successivamente vennero aggiunti 0.5 ml di  $\text{H}_2\text{O}$  e venne concentrata sotto vuoto. Il prodotto finale fu purificato e isolato tramite cromatografia su gel di silice RP-18 usando come eluente un gradiente  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$  da 9:1 a solo MeOH. Il solido ottenuto venne ridissolto in acqua e passato su resina IRA 402 attivata sotto forma di

Cl. Si ottenne ST 1268 con resa dell' 80%.

PF = 202° - 204° C

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{isPrOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:28:7:10.5:10.5)/acetone (8:2)  $R_f = 0.48$

$^1\text{H}$  NMR: 300 MHz ( $\text{D}_2\text{O}$ ); d 9.4-9.3 (d, 2H), 8.2-8.1 (t, 1H), 7.9-7.8 (t, 2H), 5.5- 5.4 (m, 1H), 5.2-4.8 (m, 2H), 3.0-2.9 (m, 2H), 2.2-2.0 (m, 2H), 1.4-1.1 (m, 14H), 0.9- 0.7 (t, 3H).

HPLC: Spherisorb-C1 (5 mm, 200 x 4.6 mm); fase mobile :  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  50 mmol 35 /  $\text{CH}_3\text{CN}$  65; rivelatori:UV 205 nm;RI; Flusso = 0.75 ml/min  
Tempo di ritenzione = 5.61 min.

MS-Fab + matrice glicerolo = 387

KF= 6%  $\text{H}_2\text{O}$

A.E. = conforme per  $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{ClO}_5\text{P}$

### Esempio 15

#### Preparazione di R-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato ST 1326

Il prodotto venne preparato come descritto nell'esempio 1 a partire da tetradecilisocianato e R-amminocarnitina sale interno, ad eccezione del fatto che il grezzo ottenuto per precipitazione con  $\text{Et}_2\text{O}$  dall'ambiente di reazione venne direttamente lavato con  $\text{Et}_2\text{O}$  e purificato per cromatografia. Resa = 57%; Pf = 160-162 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -21.1^\circ$  (c = 0.5, MeOH);  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) d 4.52 (m, 1H), 3.60 (dd, 1H), 3.48 (d, 1H), 3.20 (s, 9H), 3.10 (t, 2H), 2.40 (m, 2H), 1.45 (m, 2H), 1.28 (brs, 22H), 0.80 (brt, 3H); Massa ESI = 400  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ ; A.E. conforme per

$C_{22}H_{45}N_3O_3$ ; KF = 2.5 %  $H_2O$ ; TLC: gel di silice,  $CHCl_3:iPrOH:MeOH:H_2O:CH_3COOH$  42:7:28:10.5:10.5,  $R_f$  = 0.50; HPLC: colonna SGE-SCX (5mm, 250 x 4 mm),  $T$  = 30 °C, fase mobile =  $(NH_4)H_2PO_4$  50 mM:  $CH_3CN$  75:25, pH = 4.9 (tal quale), flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 13.63 min.

### Esempio 16

#### Preparazione di R-4-trimetilammonio-3-(undecilcarbamoil)-amminobutirrato ST 1327

Il prodotto venne preparato come descritto nell'esempio 1 a partire da undecilisocianato e R-amminocarnitina sale interno e ulteriormente purificato dopo cromatografia per cristallizzazione da  $CH_3CN$ . Resa = 50%; Pf = 149.5-150.5 °C;  $[a]_D^{20}$  = -21.16° ( $c$  = 1, MeOH);  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 300 MHz)  $\delta$  4.52 (m, 1H), 3.60 (dd, 1H), 3.48 (d, 1H), 3.20 (s, 9H), 3.10 (t, 2H), 2.40 (m, 2H), 1.45 (m, 2H), 1.28 (brs, 16H), 0.80 (brt, 3H); Massa ESI = 358  $[(M+H)^+]$ ; A.E. conforme per  $C_{19}H_{39}N_3O_3$ ; KF = 2.3  $H_2O$ ; TLC: gel di silice,  $CHCl_3:iPrOH:MeOH:H_2O:CH_3COOH$  42:7:28:10.5:10.5,  $R_f$  = 0.50; HPLC: colonna SGE-SCX (5mm, 250 x 4 mm),  $T$  = 30 °C, fase mobile =  $(NH_4)H_2PO_4$  50 mM:  $CH_3CN$  80:20, pH = 4.9 (tal quale), flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 17.37 min.

### Esempio 17

#### Preparazione di R-4-trimetilammonio-3-(eptilcarbamoil)-amminobutirrato ST1328

Il prodotto venne preparato come descritto nell'esempio 1 a partire da





eptilisocianato e R- amminocarnitina sale interno e ulteriormente purificato dopo cromatografia per cristallizzazione da  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Resa = 47 %;  $\text{Pf} = 149\text{-}150\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -34.0^\circ$  ( $c = 0.97$ ,  $\text{MeOH}$ );  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz)  $\delta$  4.52 (m, 1H), 3.60 (dd, 1H), 3.48 (d, 1H), 3.20 (s, 9H), 3.10 (t, 2H), 2.40 (m, 2H), 1.45 (m, 2H), 1.30 (brs, 8H), 0.80 (brt, 3H); Massa ESI = 302  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ ; A.E. conforme per  $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_3$ ; KF = 6.17 %  $\text{H}_2\text{O}$ ; TLC: gel di silice,  $\text{CHCl}_3$ :iPrOH:MeOH: $\text{H}_2\text{O}$ : $\text{CH}_3\text{COOH}$  42:7:28:10.5:10.5,  $R_f = 0.50$ ; HPLC: colonna SGE-SCX (5mm, 250 x 4 mm),  $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$ , fase mobile =  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  50 mM:  $\text{CH}_3\text{CN}$  85:15, pH = 6 ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 7.16 min.

### Esempio 18

#### Preparazione di R,S-4-trimetilammonio-3-(noniltiolcarbamoil)-ammino-butirrato ST1329

Il prodotto venne preparato come descritto nell'esempio 1 a partire da noniltioisocianato e R,S-amminocarnitina sale interno. La cromatografia venne effettuata usando come eleuente un gradiente da  $\text{CHCl}_3$ :MeOH 8:2 a MeOH: $\text{CHCl}_3$  8:2. Resa = 53%;  $\text{Pf} = 104\text{-}107\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 200 MHz)  $\delta$  5.45 (brm, 1H), 3.75 (dd, 1H), 3.55 (d, 1H), 3.45 (brm, 2H), 3.22 (s, 9H), 2.48 (m, 2H), 1.55 (m, 2H), 1.30 (brs, 12H), 0.90 (brt, 3H); Massa ESI = 346  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ ; A.E. conforme per  $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ ; KF = 2.6 %  $\text{H}_2\text{O}$ ; TLC: gel di silice,  $\text{CHCl}_3$ :iPrOH:MeOH: $\text{H}_2\text{O}$ : $\text{CH}_3\text{COOH}$  42:7:28:10.5:10.5,  $R_f = 0.74$ ; HPLC: colonna SGE-SCX (5mm, 250 x 4 mm),  $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$ , fase mobile =  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  50 mM:  $\text{CH}_3\text{CN}$  85:15, pH =

6.0 ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), flusso = 0.75 mL/min, rivelatori = RI, UV 205 nm, tempo di ritenzione = 8.87 min.

### Esempio 19

#### Preparazione di R-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato ST1283

Il prodotto venne preparato come descritto nell'esempio 1 a partire da nonilisocianato e da R-amminocarnitina sale interno. Pf = 146-147 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -13.4^\circ$  (c = 0.5,  $\text{H}_2\text{O}$ ); A.E. conforme per  $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_3$ ; KF = 2.8 %  $\text{H}_2\text{O}$ . I rimanenti dati erano coincidenti con quelli del racemo ST1251 (esempio 1).

### Esempio 20

#### Preparazione di S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato ST1338

Il prodotto venne preparato come descritto nell'esempio 1 a partire da nonilisocianato e da S-amminocarnitina sale interno. Pf = 146-147 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +16.7^\circ$  (c = 0.43,  $\text{H}_2\text{O}$ );  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz)  $\delta$  4.52 (m, 1H), 3.60 (dd, 1H), 3.45 (d, 1H), 3.18 (s, 9H), 3.10 (t, 2H), 2.40 (m, 2H), 1.45 (m, 2H), 1.28 (brs, 12H), 0.90 (brt, 3H); Massa ESI = 330  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ ; A.E. conforme per  $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_3$ ; KF = 1.8 %  $\text{H}_2\text{O}$ . I rimanenti dati erano coincidenti con quelli del racemo ST1251 (esempio 1).

### Esempio 21

#### Preparazione di S-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato ST1340

Il prodotto venne preparato come descritto nell'esempio 1 a partire da

tetradecilisocianato e S-amminocarnitina sale interno, ad eccezione del fatto che il grezzo ottenuto per precipitazione con Et<sub>2</sub>O dall'ambiente di reazione venne direttamente lavato con Et<sub>2</sub>O e purificato per cromatografia. Resa = 57%; Pf = 166-167 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +20.7^\circ$  (c = 0.5, MeOH); A.E. conforme per C<sub>22</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>; KF = 1.7 % H<sub>2</sub>O; I rimanenti dati erano coincidente con quelli della forma R ST1326 (esempio 15).

### Esempio 22

#### Preparazione di R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilammino-butirrato ST 1252

##### Estere isobutilico dell'acido R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilammino-butirrico acetato

In ml 250 di metanolo, si solubilizzarono gr 5 (0.0198 moli) di estere isobutilico dell'amminocarnitina racema e gr.4,6 (0.0217 moli) di tetradecanale. Alla soluzione si addizionarono ml 1.13 (0.0198 moli) di acido acetico glaciale e gr 1 di Pd/C al 10%. La miscela venne sottoposta a idrogenazione ad una pressione di 30 p.s.i. di idrogeno, per una notte. Si filtrò il catalizzatore e il solvente venne evaporato sotto pressione ridotta. Si ottenne un olio giallo pallido che venne purificato su colonna di gel di silice eluendo prima con acetato di etile e successivamente con acetato di etile/metanolo 9:1.

Si ottennero gr 4 di prodotto.

Resa : 47 %

TLC:            eluente:            CHCl<sub>3</sub>/MeOH/IsoprOH/            H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>COOH  
(42:28:7:10.5:10.5), R<sub>f</sub> = 0.74

$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 300 MHz d 3.92-3.90 (d, 2H), 3.64 -3.58 (m, 1H), 3.50-3.30 (m, 2H), 2.80-2.50, (m, 4H), 2.0-1.9 (m, 1H) 2.6-2.4(m, 2H), 1.3 (s, 22H), 0.98-0.82 (m, 9H)

R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilammino-butirrato

Furono sottoposti ad idrolisi gr 3.3 di estere isobutilico dell'acido R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilammino butirrico sotto forma di acetato, su resina IRA 402 attivata sotto forma di  $\text{OH}^-$ . Il prodotto fu eluito con acqua, l'acqua fu evaporata sotto pressione ridotta e il solido bianco che si ottenne venne lavato con metanolo, filtrato e essiccato sotto vuoto.

Si ottennero gr. 1.95 di prodotto..

Resa: 70%

TLC: eluente:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{Isopropanolo}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$   
(42:28:7:10,5:10,5),  $R_f = 0.5$

HPLC: SGE-SCX ( $5\mu\text{m}$ , 250 x 4mm), fase mobile:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  0.050M/ $\text{CH}_3\text{CN}$  40%, pH= 4.0, flusso:0.75ml/min.; rivelatore RI, tempo di ritenzione = 30.017 min.

P.F. = dec.  $160^\circ\text{C}$

$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 300 MHz d 3.40-3.35 (m, 3H), 3.2 (s, 9H), 2.80-2.72 (m, 1H), 2.56-2.42 (m, 2H) 2.27-2.16 (m, 1H), 1.55-1.40 (m, 2H), 1.3 (s, 22H), 0.92-0.85 (t, 3H)

A.E. Conforme per  $\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_2$

KF = 1.93%  $\text{H}_2\text{O}$

**Esempio 23**

**Preparazione di R,S,4-trimetilammonio-3-ottilammino-butirrato**

## ST 1254

Estere isobutilico dell'acido R,S-4-trimetilammonio-3-ottilammino-butirrico acetato

In ml 250 di metanolo, si solubilizzarono gr 5 (0.0198 moli) di estere isobutilico dell'ammino carnitina cloruro racema e gr 2.79 (0.0217 moli) di ottanalaldeide. Alla soluzione vennero aggiunti ml 1.13 (0.0198 moli) di acido acetico glaciale e la miscela venne sottoposta a idrogenazione catalitica con Pd/C al 10% e ad una pressione di idrogeno di 30 psi.

Dopo una notte il catalizzatore venne filtrato su celite e il solvente venne evaporato sotto pressione ridotta, fino a secchezza. Si ottennero gr 8.5 di prodotto, che venne purificato su colonna di gel di silice eluendo prima con acetato di etile al 100% e successivamente con acetato di etile/metanolo (9:1) (8.5:1.5)

Si ottennero gr. 3 di prodotto.

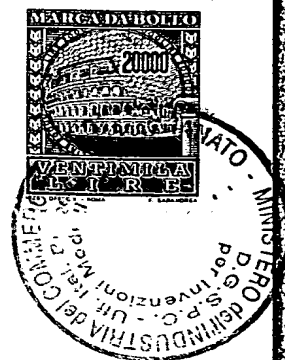
Resa: 40%

TLC:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{Isopropanolo}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$  (42:28:7:10,5:10,5),  $R_f = 0.54$

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 300 MHz d 3.92-3.90 (d, 2H), 3.64 -3.58 (m, 1H), 3.50-3.30 (m, 2H), 2.80-2.50, (m, 4H), 2.-0-1.9 (m, 1H) 2.6-2.4(m, 2H), 1.3 (s, 10H), 0.98-0.82 (m, 9H)

R,S,- 4-trimetilammonio-3-ottilammino-butirrato

Furono sottoposti a idrolisi gr 2.8 (0.00719 moli) di estere isobutilico dell'acido R,S-4-trimetilammonio-3-ottilammino-butirrico sotto forma di acetato, su resina IRA 402 attivata sotto forma di  $\text{OH}^-$ . Il prodotto fu



eluato con acqua, l'acqua evaporata a secchezza e il solido bianco residuo fu lavato con metanolo, filtrato e essiccato sotto vuoto. Si ottennero gr.1.8 di prodotto.

Resa: 70%

TLC:eluente:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{Isopropanolo}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$   
(42:28:7:10.5:10.5),  $R_f = 0.32$

P.F.= dec.  $140^\circ\text{C}$

HPLC: SCX-SGE ( $5\mu\text{m}$ ,  $4 \times 250\text{mm}$ ), fase mobile:  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  50 mM (60/40), pH = 4, flusso: 0.75 ml/min., tempo di ritenzione = 43.20 min.

$^1\text{H}$ NMR( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 300 MHz d 3.42-3.30 (m, 3H), 3.2 (s, 9H), 2.85-2.70 (m, 1H), 2.60-2.40 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 1H), 1.55-1.45 (m, 2H), 1.3 (s, 10H), 0.92-0.82 (t, 3H)

A.E. Conforme per  $\text{C}_{15}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2$

KF = 2.8%  $\text{H}_2\text{O}$

#### DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITA' FARMACOLOGICA

##### Test 1: Determinazione dell'attività inibitoria della CPT

L'inibizione della CPT è stata valutata su preparazioni mitocondriali fresche ottenute da fegato o cuore di ratto Fischer, normalmente alimentato; i mitocondri prelevati dal fegato o cuore vengono sospesi in tampone saccarosio 75 mM, EGTA 1 mM, pH 7.5. 100  $\mu\text{l}$  di una sospensione mitocondriale, contenente 50  $\mu\text{M}$  di  $^{14}\text{C}$  palmitoil-CoA (att.spec. 10000 DPM/mole) e 10 mM di L-carnitina, sono incubati a  $37^\circ\text{C}$  in presenza di concentrazioni scalari (0-3 mM) di prodotto in esame.

Tempo di reazione: 1 minuto.

La  $IC_{50}$  viene quindi determinata. I risultati sono riportati in tabella 1.

Si osserva che i prodotti secondo la presente invenzione hanno attività inibitoria sorprendentemente superiore a quella del composto SDZ-CPI-975, esempio 1 del brevetto EP-A-574355 da noi scelto come composto di riferimento.

Test 2: Determinazione della produzione di  $\beta$ -idrossibutirrato stimolata da oleato

La sintesi di  $\beta$ -idrossibutirrato è indice della attività della CPT. Difatti la produzione di corpi chetonici, prodotti terminali della beta-ossidazione mitocondriale, è legata all'attività della CPT.

Si utilizzano preparazioni mitocondriali ottenute secondo la tecnica descritta Venerando R. et al. (1994) Am. J. Physiol. 266: C455-C461]

Gli epatociti vengono incubati a 37°C in KRB tampone bicarbonato a pH 7.4, glucosio 6 mM, 1% BSA in atmosfera  $O_2$  /  $CO_2$  95/5% alla concentrazione di  $2.5 \times 10^6$  cellule/ml. Dopo una preincubazione di 40 min. con in composto da saggiare a diverse concentrazioni si preleva la prima serie di campioni ( $T_{0 \text{ min}}$ ) e si aggiunge l'oleato (1 mM finale in KRB + BSA 1.4%). Dopo 20 min viene effettuato il secondo prelievo ( $T_{20 \text{ min}}$ ).

I risultati sono riportati in tabella 2. I valori presentati sono la media di tre diversi esperimenti, ognuno condotto in doppio.

Si osserva che i prodotti della presente invenzione hanno attività inibitoria della produzione di  $\beta$ -idrossibutirrato sorprendentemente

superiore rispetto a quella del composto SDZ-CPI-975, esempio 1 del brevetto EP-A-574355, da noi scelto come composto di riferimento.

Test 3: Glucosio e  $\beta$ -idrossibutirrato nel siero di ratti trattati

Ratti Fischer, alimentati normalmente, vengono lasciati a digiuno per 24 ore e successivamente trattati con i composti in esame. Ad un ora dal trattamento gli animali vengono sacrificati e le concentrazioni seriche di Glucosio e  $\beta$ -idrossibutirrato vengono determinate.

I risultati sono riportati in tabella 3. Per il composto ST 1326 sono state utilizzate dosi di 14.5mg/ 2ml / Kg. Per gli altri composti le dosi utilizzate sono molarmente equivalenti a quelle di ST 1326.

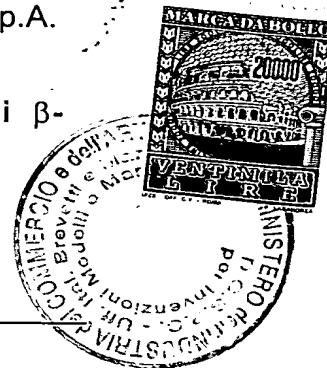
**Tabella 1:  $IC_{50}$  della curva di inibizione della CPT1 in mitocondri epatici di ratto.**

Molecola	$IC_{50}$ di CPT1 epatica ( $\mu M$ / l)
SDZ-CPI-975	17.4
ST 1326	0.75
ST 1327	3.2



Tabella 2:  $IC_{50}$  della curva di inibizione della produzione di  $\beta$ -idrossibutirrato in epatociti di ratto.

Molecola	$IC_{50}$ prod. $\beta$ -OH butirrato ( $\mu$ M / l)
SDZ-CPI-975	3.7
ST1251	0.5
ST1253	0.9
ST1285	1.9

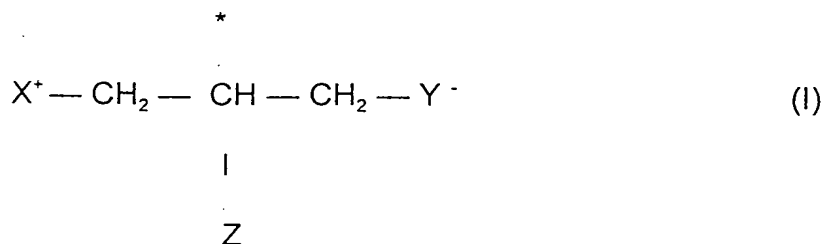


**Tabella 3: concentrazione di  $\beta$ -idrossibutirrato e di glucosio (mg/dl)  
nel siero di ratti digiuni da 24 h, ad un'ora da trattamento  
intraperitoneale**

	Controlli	SDZ CPI-975	ST1251	ST1253	ST1326	ST1327	ST1328
<b><math>\beta</math>-OH Butirrato</b>							
media	1867	119.9	99.8	118.8	133.1	93.0	169.2
e.s.	240	12.8	8.3	20.4	12.4	8.7	26.7
p <	-	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
<b>Glucosio</b>							
media	108.8	87.6	76.9	88.2	84.2	84.9	79.5
e.s.	6.7	1.0	2.3	3.9	2.4	1.6	1.6
p <	-	0.05	0.01	0.05	0.05	0.05	0.05

**RIVENDICAZIONI**

1. Composti nella forma racemica (R,S) o nelle loro forme enantiomeriche R ed S, aventi la struttura descritta dalla formula (I):



dove  $X^+$  è scelto tra  $= N^+ (R_1, R_2, R_3)$  e  $P^+(R_1, R_2, R_3)$ , in cui  $R_1, R_2, R_3$  sono scelti tra H ed alchili uguali o diversi, lineari o ramificati, aventi da 1 a 9 atomi di carbonio,  $-CH=NH(NH_2)$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$ ;

oppure uno o più tra  $R_1, R_2$  e  $R_3$  formano con l'azoto un sistema eterociclico saturo o insaturo, monociclico o biciclico;

con la condizione che almeno uno tra  $R_1, R_2, R_3$  è diverso da H;

Z è scelto tra :

$-OR_4$ , (etere)

$-OCOOR_4$ , (carbonato)

$-OCONHR_4$ , (carbammato)

$-OCSNHR_4$ , (tiocarbammato)

$-OCSOR_4$ , (tiocarbonato)

$-NHR_4$ , (alchilammino)

$-NHCOOR_4$ , (carbammato)

$-NHCSOR_4$ , (tiocarbammato)

$-NHCONHR_4$ , (ureido)

$-NHCSNHR_4$ , (tioureido)

- NHSOR<sub>4</sub>, (solfinammide)
- NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>, (solfonammide)
- NHSO<sub>2</sub>NHR<sub>4</sub>, (solfammide)
- SR<sub>4</sub>, (tioetere)

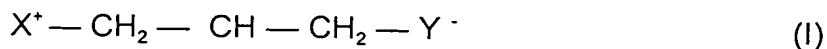
dove R<sub>4</sub> è un alchile avente da 2 a 20 atomi di carbonio;

Y<sup>-</sup> è scelto tra -COO<sup>-</sup>, -PO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, -OPO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, tetrazolato-5-il.

2. Composti secondo la rivendicazione 1, dove R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> sono metile.
3. Composti secondo la rivendicazione 1, dove il sistema eterociclico formato insieme con l'azoto da R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> è scelto tra morfolinio, piridinio, chinolinio, pirrolidinio, chinuclidinio.
4. Composti secondo la rivendicazione 1, dove R<sub>1</sub> ed R<sub>2</sub> sono rappresentati da H, ed il gruppo R<sub>3</sub>, è scelto tra -CH=NH(NH<sub>2</sub>), -NH<sub>2</sub>, -OH.
5. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4, dove Z è scelto tra ureido (NHCONHR<sub>4</sub>) o carbammato (-OCONHR<sub>4</sub>) ed R<sub>4</sub> è un alchile lineare o ramificato, saturo o insaturo, avente da 7 a 20 atomi di carbonio.
6. Composti secondo la rivendicazione 5 dove R<sub>4</sub> è un alchile lineare o ramificato, saturo o insaturo, avente da 9 a 18 atomi di carbonio.
7. R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammio-butirrato.
8. R,S-4-chinuclidinio-3-(tetradecilossicarbonil)-ossi-butirrato.
9. R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato.
10. Acido R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbonil)-ossi-butirrico cloruro.

11. R,S-4-trimetilfosfonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato.
12. R,S-4-trimetilammonio-3-(ottilossicarbonil)-ammino-butirrato.
13. R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbonil)-ammino-butirrato.
14. R,S-4-trimetilammonio-3-ottilossi-butirrato.
15. R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilossi-butirrato.
16. R,S-1-guanidinio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano.
17. R,S-1-trimetilammonio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano.
18. R,S-3-chinuclidinio-2-(tetradecilossicarbonil)-ossi-1-propanfosfonato monobasico.
19. R,S-3-trimetilammonio-2-(nonilamminocarbonil)-ossi-1-propanfosfonato monobasico.
20. Acido-R,S-3-piridinio-2-(nonilamminocarbonil)-ossi-1-propanfosfonico cloruro.
21. R-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato.
22. R-4-trimetilammonio-3-(undecilcarbamoil)-ammino-butirrato.
23. R-4-trimetilammonio-3-(eptilcarbamoil)-ammino-butirrato.
24. R,S-4-trimetilammonio-3-(noniltiocarbamoil)-ammino-butirrato.
25. R-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato.
26. S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato.
27. S-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato .
28. R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilammino-butirrato.
29. R,S-4-trimetilammonio-3-ottilammino-butirrato.
30. Composti nella forma racemica (R,S) o nelle loro forme enantiomeriche R ed S, aventi la struttura descritta dalla formula (I):





I

Z

dove  $X^+$  è scelto tra  $= N^+(R_1, R_2, R_3)$  e  $P^+(R_1, R_2, R_3)$ , in cui  $R_1, R_2, R_3$  sono scelti tra H ed alchili uguali o diversi, lineari o ramificati, aventi da 1 a 9 atomi di carbonio,  $-CH=NH(NH_2)$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$ ;

oppure uno o più tra  $R_1, R_2$  e  $R_3$  formano con l'azoto un sistema eterociclico saturo o insaturo, monociclico o biciclico;

con la condizione che almeno uno tra  $R_1, R_2, R_3$  è diverso da H;

Z è scelto tra :

$-OR_4$ , (etere)

$-OCOOR_4$ , (carbonato)

$-OCONHR_4$ , (carbammato)

$-OCSNHR_4$ , (tiocarbammato)

$-OCSOR_4$ , (tiocarbonato)

$-NHR_4$ , (alchilammino)

$-NHCOOR_4$ , (carbammato)

$-NHCSOR_4$ , (tiocarbammato)

$-NHCONHR_4$ , (ureido)

$-NHCSNHR_4$ , (tioureido)

$-NHSOR_4$ , (solfinammide)

$-NHSO_2R_4$ , (solfonammide)

$-NHSO_2NHR_4$ , (solfammide)

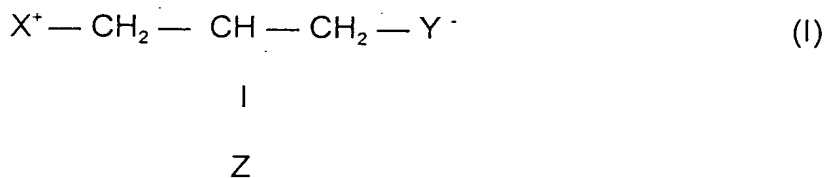
-SR<sub>4</sub>, (tioetere)

dove R<sub>4</sub> è un alchile avente da 2 a 20 atomi di carbonio;

Y<sup>-</sup> è scelto tra -COO<sup>-</sup>, -PO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, -OPO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, tetrazolato-5-il

per uso in terapia.

31. Composizione farmaceutica contenente come principio attivo uno o più tra i composti di formula (I)



nella forma racemica (R,S) o nelle loro forme enantiomeriche R ed S,

dove X<sup>+</sup> è scelto tra N<sup>+</sup> (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>) e P<sup>+</sup> (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>), in cui R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> sono scelti tra H ed alchili uguali o diversi, lineari o ramificati, aventi da 1 a 9 atomi di carbonio, -CH=NH(NH<sub>2</sub>), -NH<sub>2</sub>, -OH;

oppure uno o più tra R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> formano con l'azoto un sistema eterociclico saturo o insaturo, monociclico o biciclico;

con la condizione che almeno uno tra R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> è diverso da H;

Z è scelto tra :

-OR<sub>4</sub>, (etere)

-OCOOR<sub>4</sub>, (carbonato)

-OCONHR<sub>4</sub>, (carbammato)

-OCSNHR<sub>4</sub>, (tiocarbammato)

-OCSOR<sub>4</sub>, (tiocarbonato)

-NHR<sub>4</sub>, (alchilammino)

- NHCOOR<sub>4</sub>, (carbammato)
- NHCSOR<sub>4</sub>, (tiocarbammato)
- NHCONHR<sub>4</sub>, (ureido)
- NHCSNHR<sub>4</sub>, (tioureido)
- NHSOR<sub>4</sub>, (solfinammide)
- NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>, (solfonammide)
- NHSO<sub>2</sub>NHR<sub>4</sub>, (solfammide)
- SR<sub>4</sub>, (tioetere)

dove R<sub>4</sub> è un alchile avente da 2 a 20 atomi di carbonio;

Y<sup>-</sup> è scelto tra -COO<sup>-</sup>, -PO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, -OPO<sub>3</sub>H<sup>-</sup> tetrazolato-5-il

in associazione con eccipienti e/o diluenti farmaceuticamente accettabili.

32. Composizione secondo la rivendicazione 31, dove R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> sono metile.

33. Composizione secondo la rivendicazione 31, dove il sistema eterociclico formato insieme con l'azoto da R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> è scelto tra morfolinio, piridinio, chinolinio, pirrolidinio, chinuclidinio.

34. Composizione secondo la rivendicazione 31, dove R<sub>1</sub> ed R<sub>2</sub> sono rappresentati da H, ed il gruppo R<sub>3</sub>, è scelto tra -CH=NH(NH<sub>2</sub>), -NH<sub>2</sub>, -OH.

35. Composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 31-34, dove Z è scelto tra ureido (NHCONHR<sub>4</sub>) o carbammato (-OCONHR<sub>4</sub>) ed R<sub>4</sub> è un alchile lineare o ramificato, saturo o insaturo, avente da 7 a 20 atomi di carbonio.

36. Composizione secondo la rivendicazione 35 dove R<sub>4</sub> è un alchile



lineare o ramificato, saturo o insaturo, avente da 9 a 18 atomi di carbonio.

37. Composizione secondo la rivendicazione 31, dove il principio attivo scelto tra

R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato

R,S-4-chinuclidinio-3-(tetradecilossicarbonil)-ossi-butirrato

R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato

Acido R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbonil)-ossi-butirrico cloruro

R,S-4-trimetilfosfonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato

R,S-4-trimetilammonio-3-(ottilossicarbonil)-ammino-butirrato

R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbonil)-ammino-butirrato

R,S-4-trimetilammonio-3-ottilossi-butirrato

R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilossi-butirrato

R,S-1-guanidinio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano

R,S-1-trimetilammonio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano

R,S-3-chinuclidinio-2-(tetradecilossicarbonil)-ossi-1-propanfosfonato  
monobasico

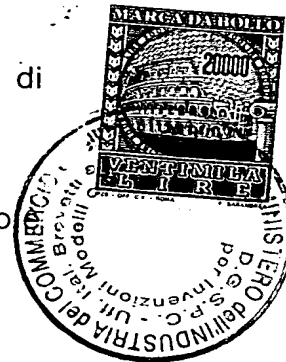
R,S-3-trimetilammonio-2-(nonilamminocarbonil)-ossi-1-propanfosfonato  
monobasico

Acido-R,S-3-piridinio-2-(nonilamminocarbonil)-ossi-1-propanfosfonico  
cloruro

R-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato

R-4-trimetilammonio-3-(undecilcarbamoil)-ammino-butirrato

R-4-trimetilammonio-3-(eptilcarbamoil)-ammino-butirrato



R,S-4-trimetilammonio-3-(noniltiocarbamoil)-ammino-butirrato

R-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato

S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato

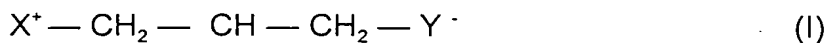
S-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato

R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilammino-butirrato

R,S-4-trimetilammonio-3-ottilammino-butirrato.

38. Uso dei composti di formula (I)

\*



nella forma racemica (R,S) o nelle loro forme enantiomeriche R ed S,

dove  $X^+$  è scelto tra  $N^+(R_1, R_2, R_3)$  e  $P^+(R_1, R_2, R_3)$ , in cui  $R_1, R_2, R_3$  sono scelti tra H ed alchili uguali o diversi, lineari o ramificati, aventi da 1 a 9 atomi di carbonio,  $-CH=NH(NH_2)$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$ ;

oppure uno o più tra  $R_1, R_2$  e  $R_3$  formano con l'azoto un sistema eterociclico saturo o insaturo, monociclico o biciclico;

con la condizione che almeno uno tra  $R_1, R_2, R_3$  è diverso da H;

Z è scelto tra :

$-OR_4$ , (etere)

$-OCOOR_4$ , (carbonato)

$-OCONHR_4$ , (carbammato)

$-OCSNHR_4$ , (tiocarbammato)

$-OCSOR_4$ , (tiocarbonato)

- NHR<sub>4</sub>, (alchilammino)
- NHCOOR<sub>4</sub>, (carbammato)
- NHCSOR<sub>4</sub>, (tiocarbammato)
- NHCONHR<sub>4</sub>, (ureido)
- NHCSNHR<sub>4</sub>, (tioureido)
- NHSOR<sub>4</sub>, (solfinammide)
- NHSO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>, (solfonammide)
- NHSO<sub>2</sub>NHR<sub>4</sub>, (solfammide)
- SR<sub>4</sub>, (tioetere)

dove R<sub>4</sub> è un alchile avente da 2 a 20 atomi di carbonio;

Y<sup>-</sup> è scelto tra -COO<sup>-</sup>, -PO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, -OPO<sub>3</sub>H<sup>-</sup> tetrazolato-5-ile

per la preparazione di un medicamento per il trattamento delle patologie legate ad una iperattività della carnitina palmitoil trasferasi.

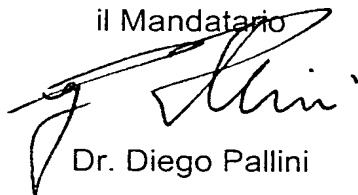
39. Uso secondo la rivendicazione 38, per la prevenzione ed il trattamento dell'iperglicemia, del diabete e delle patologie ad esso correlate, e dell'insufficienza cardiaca congestizia.

(GER/Im)

Milano, li 15.05.1998

p. SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

il Mandatario



Dr. Diego Pallini

NOTARBARTOLO & GERVASI S.p.A.

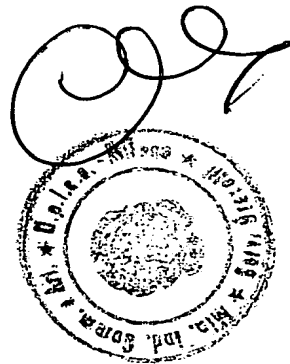
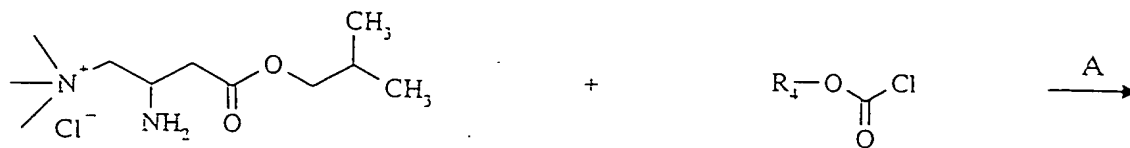
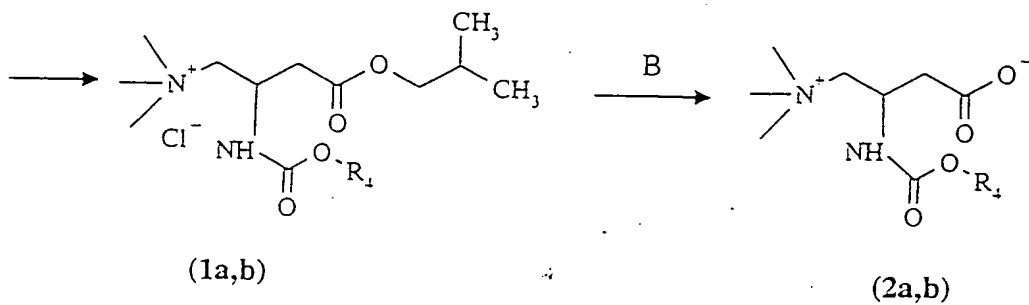




FIGURA 1

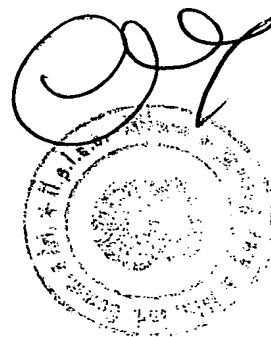


MI 58 A 1075



R<sub>4</sub> = a) - (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>  
 b) - (CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>CH<sub>3</sub>

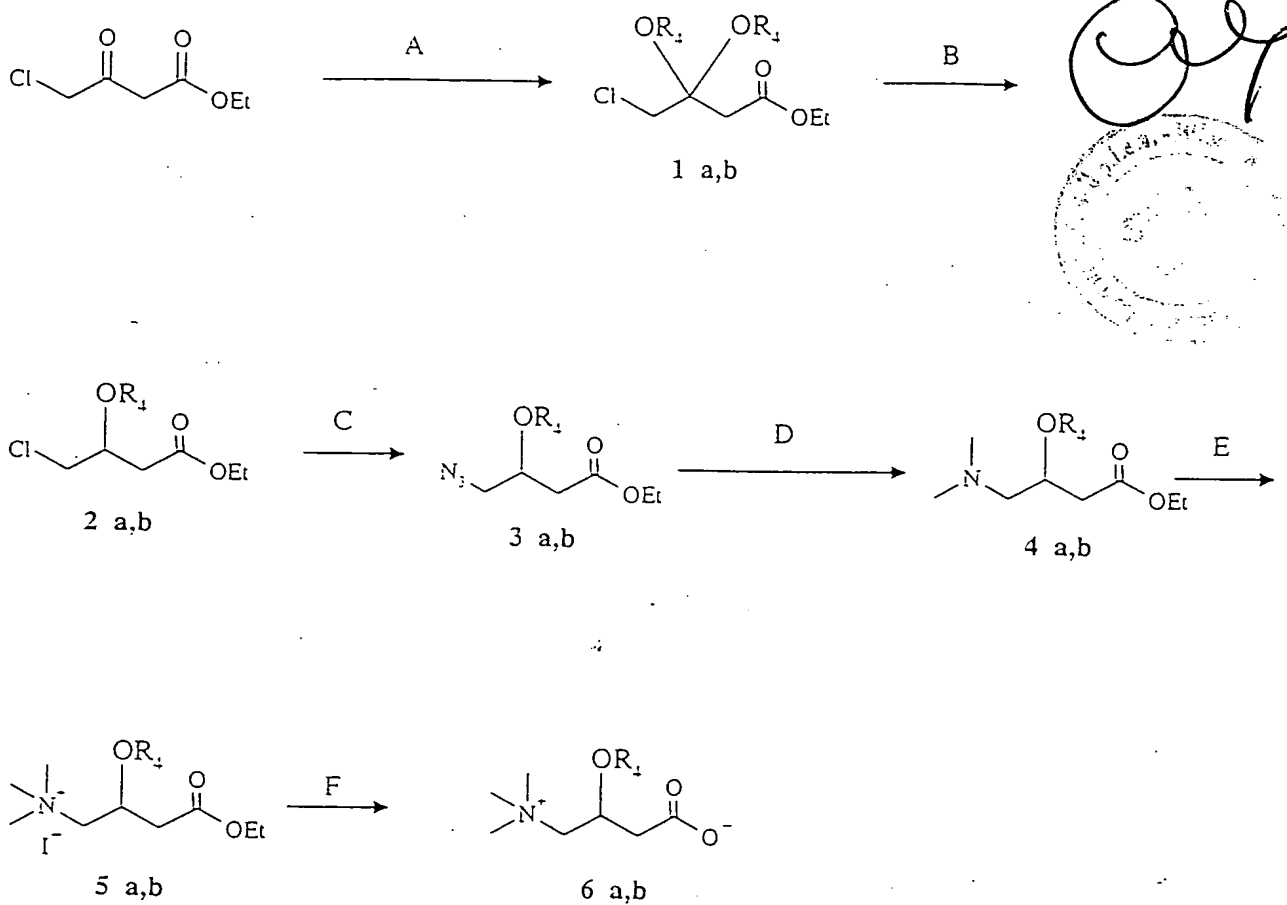
A) base  
 B) IRA 402/forma OH<sup>-</sup>





MI 58 A 1075

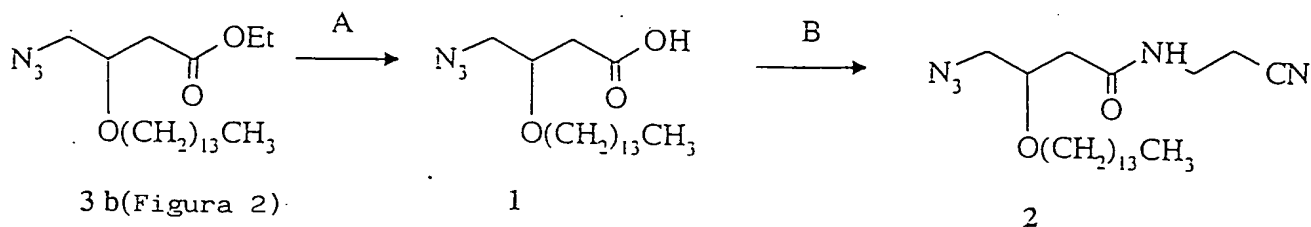
FIGURA 2



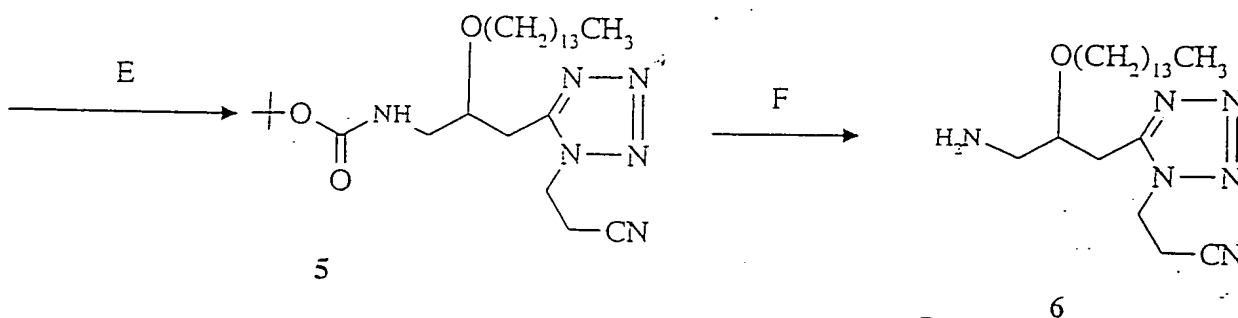
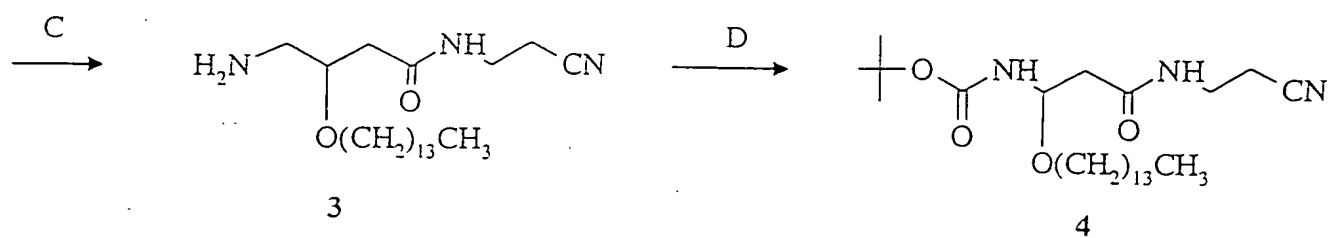
R<sub>4</sub> = a) -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>  
b) -(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>CH<sub>3</sub>

- A) R<sub>4</sub>OH, SOCl<sub>2</sub>
- B) Et<sub>3</sub>SiH, BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O
- C) NaN<sub>3</sub>
- D) Pd/C H<sub>2</sub>, HCHO
- E) CH<sub>3</sub>I
- F) IRA 402 OH<sup>-</sup>

FIGURA 3 A



MI 53 A 1075

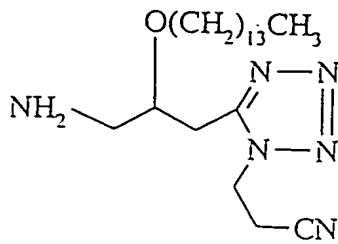


A) NaOH 4N, MeOH, 16h, t.a

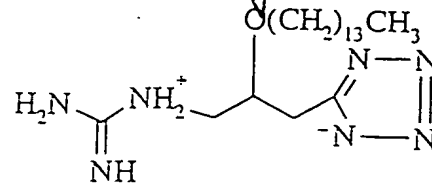
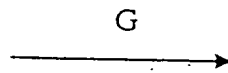
B)  $H_2NCH_2CH_2CN$ , DMF, TEA, DEPCC) THF,  $Ph_3P$ D)  $(BOC)_2O$ , NaOH 1NE) THF,  $Ph_3P$ , DEAD,  $Et_3SiN_3$ 

F) HCl 3N, NaOH 1N

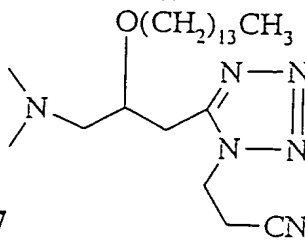
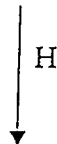
FIGURA 3 B



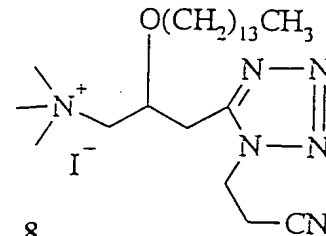
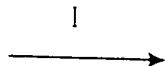
6



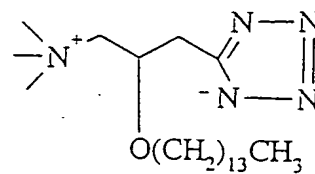
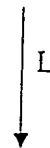
10



7



8



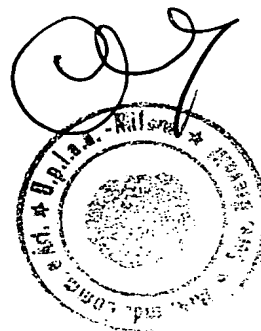
9

G)  $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{NH})-\text{SO}_3\text{H} \cdot \text{NaOH}$  1N

H)  $\text{HCOOH}$ ,  $\text{H}_2\text{CO}$

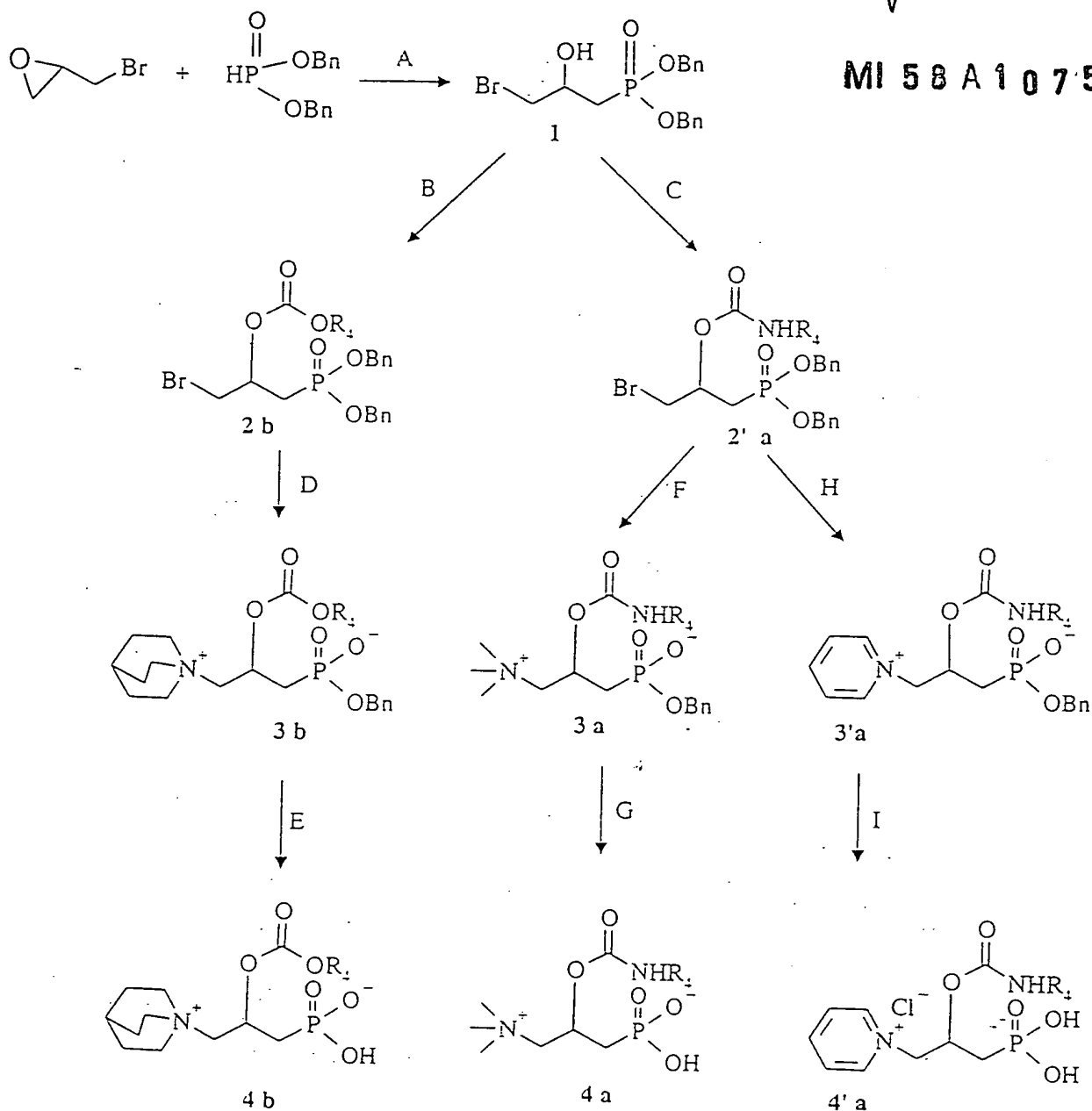
I)  $\text{CH}_3\text{I}$

L) IRA 402 attiv.  $\text{OH}^-$



MI 58 A 1075

FIGURA 4



R<sub>4</sub> = a) -(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>CH<sub>3</sub>  
b) -(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>CH<sub>3</sub>

A) 1) BuLi 2) BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O  
B) R<sub>4</sub>OCOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, Base  
C) R<sub>4</sub>N=C=O, BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O  
D) Chinucidina F) Trimetilammina H) Piridina  
E=G) H<sub>2</sub>, Pd/C D) Me<sub>3</sub>SiH, H<sub>2</sub>O, IRA 402 (Cl<sup>-</sup>)

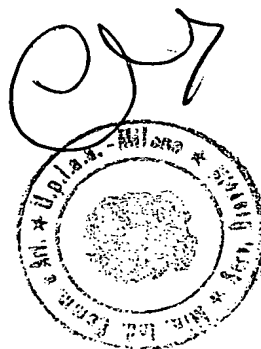




FIGURA 5A

MI 58 A 1075



1)	ST1251 R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato	<chem>C[N+](C)(C)CC(C(=O)[O-])NC(=O)NCCCCCCCCC</chem>
2)	ST1265 R,S-4-chinuclidinio-3-(tetradecilossicarbo-nil)-ossi-butirrato	<chem>C12CCN(CC1)CC2C(C(=O)[O-])OC(=O)OCCCCCCCCCCCCCCC</chem>
3)	ST1298 R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato	<chem>C[N+](C)(C)CC(C(=O)[O-])OC(=O)NCCCCCCCCC</chem>
4)	ST1297 Acido R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossi-carbonil)-ossi-butirrico cloruro	<chem>C[N+](C)(C)CC(C(=O)O)OC(=O)NCCCCCCCCC.[Cl-]</chem>
5)	ST1300 R,S-4-trimetilfosfonio-3-(nonilcarbamoil)-ossi-butirrato	<chem>C[P+](C)(C)CC(C(=O)[O-])NC(=O)NCCCCCCCCC</chem>
6)	ST1253 R,S-4-trimetilammonio-3-(ottilossicarbo-nil)-ammino-butirrato	<chem>C[N+](C)(C)CC(C(=O)[O-])NC(=O)OCCCCCCCCCCC</chem>
7)	ST1285 R,S-4-trimetilammonio-3-(nonilossicarbo-nil)-ammino-butirrato	<chem>C[N+](C)(C)CC(C(=O)[O-])NC(=O)OCCCCCCCCCCC</chem>

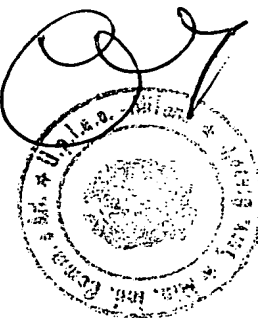


FIGURA 5 B

MI 58 A 1075

8)	ST1207 R,S-4-trimetilammonio-3-ottilossi-butirrato	
9)	ST1228 R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilossi-butirrato	
10)	ST1263 R,S-1-guanidinio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano	
11)	ST1287 R,S-1-trimetilammonio-2-tetradecilossi-3-(tetrazolato-5-il)-propano	
12)	ST1260 R,S-3-chinuclidinio-2-(tetradecilossicarbo-nil)-ossi-1-propanfosfonato monobasico	
13)	ST1286 R,S-3-trimetilammonio-2-(nonilammino-carbonil)-ossi-1-propanfosfonato monobasico	
14)	ST1268 Acido-R,S-3-piridinio-2-(nonilamminocar-bonil)-ossi-1-propanfosfonico cloruro	
15)	ST1326 R-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarba-moil)-ammino-butirrato	

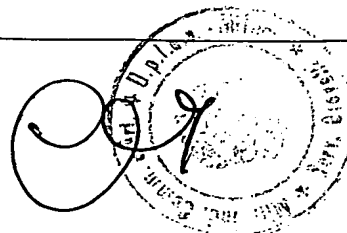


FIGURA 5.C

MI 58 A 1075

16) ST1324 R-4-trimetilammonio-3-(undecilcarbamoil)-ammino-butirrato	
17) ST1328 R-4-trimetilammonio-3-(eptilcarbamoil)-ammino-butirrato	
18) ST1329 R,S-4-trimetilammonio-3-(noniltiocarbamoil)-ammino-butirrato	
19) ST1283 R-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato	
20) ST1338 S-4-trimetilammonio-3-(nonilcarbamoil)-ammino-butirrato	
21) ST1340 S-4-trimetilammonio-3-(tetradecilcarbamoil)-ammino-butirrato	
22) ST1252 R,S-4-trimetilammonio-3-tetradecilammino-butirrato	
23) ST1254 R,S-4-trimetilammonio-3-ottilammino-butirrato	

